

**Zum Problem der Kontrolle der
Anticoagulantien-Therapie
Vergleich der
Quickmethode mit Thrombotest-Owren**

Rosemarie von Jagow geb. Schönke

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555224_0106

**Zum Problem der Kontrolle der
Anticoagulantien-Therapie
Vergleich der
Quickmethode mit Thrombotest-Owren**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Rosemarie von Jagow geb. Schöнке
aus Meißen

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. N. GOOSSENS
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 17.3.1964



MEINEN ELTERN
GEWIDMET

I N H A L T

E i n l e i t u n g

1. Überblick über den heutigen Stand der Gerinnungstheorie unter besonderer Berücksichtigung der Vorphase.
2. Wirkungsweise der Anticoagulantien vom Typ der Cumarinderivate.
3. Schwierigkeiten des Kontrolltestes.
Thromboplastintest modifiziert nach QUICK.
Thrombotest nach OWREN.
4. Fragestellung.

E x p e r i m e n t e l l e r T e i l

Material und Methoden

1. Reagenzien
2. Bestimmung der Thromboplastinzeit nach QUICK
3. Bestimmung der Gerinnungszeit mit Thrombotest-Reagens.
4. Herstellung der Eichkurven.

Ergebnisse

- I Vorversuche mit Thrombotest-Reagens
- II Patientenversuche
 - 1. Korrelation zwischen beiden Methoden
 - 2. Blutungskomplikationen
 - 3. Patienten mit zu niedrigen Quick- oder Thrombotestwerten
- III Streuung der Einzelmessung bei beiden Methoden
- IV Arbeitsaufwand und Preis

Besprechung der Ergebnisse

Zusammenfassung

Nach der klassischen fermentativen Gerinnungstheorie vollzieht sich die Blutgerinnung in zwei Phasen. In der ersten wird Prothrombin (=Faktor II) durch Thrombokinase (=Faktor III) und ionisiertes Calcium (=Faktor IV) in das eigentliche Gerinnungsferment Thrombin überführt. Letzteres bewirkt in der zweiten Phase die Verfestigung des flüssigen Faserstoffes, die Umwandlung des Fibrinogens (=Faktor I) in Fibrin. Durch die Forschung der letzten 25 Jahre wurde dieses Grundschema wesentlich erweitert. Die neu entdeckten Faktoren waren nicht so sehr durch ihre Zahl verwirrend als vielmehr dadurch, daß verschiedene Forscher oft zu gleicher Zeit, aber mit unterschiedlichen Methoden zur Aufstellung neuer Faktoren gelangten und daß jeder Untersucher eine eigene Nomenklatur benutzte, was das Vergleichen der Ergebnisse sehr erschwerte. Durch den Eingang biochemischer Untersuchungsmethoden in die Gerinnungsforschung wurde die Identifizierung der verschiedenen Faktoren durch ihre physiko-chemischen Eigenschaften etc. im wesentlichen erreicht. Die im Jahre 1959 gegründete Internationale Kommission zur Standardisierung der Nomenklatur der Blutgerinnungsfaktoren legte für alle ausreichend charakterisierten Faktoren eine fortlaufende römische Bezifferung fest.

Überblick über den heutigen Stand der Gerinnungstheorie unter besonderer Berücksichtigung der Vorphase.

Durch das Auffinden weiterer Faktoren ergab sich ein neuer Gesichtspunkt insofern als die Thrombokinasen mehr in den Mittelpunkt rückte und man erkannte, daß ihre Aktivierung in einer komplizierten enzymatischen Reaktionsfolge der ersten Gerinnungsphase des klassischen Schemas vorausgeht. Um die alte Einteilung beizubehalten, bezeichnete man die Aktivierung der Thrombokinasen als Vorphase und die beteiligten Faktoren als Vorphasenfaktoren.

1944 beschrieb OWREN (87,88,89) einen labilen Faktor, den er den bisher bekannten 4-Faktoren als Faktor V (Proaccelerin) hinzufügte. Er ist für die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin notwendig. Nach der Schule von SEEGER (120,121,122,63), die den Faktor als Plasma-acceleratorglobulin bezeichnet, wird er durch geringe Mengen Thrombin aus der inaktiven Vorstufe in das aktive Serum-acceleratorglobulin überführt, welches dann wesentlich an der schnellen Entstehung von Thrombin beteiligt ist.

KOLLER (55) beschrieb einen bedeutend stabileren Faktor, den er in der Fortsetzung der Nummerierung von OWREN als Faktor VII aufführte.

Aus dem Plasma gesunder Personen wurde von GOVAERTS und GRATIA (30) eine Eiweißfraktion abgetrennt, die imstande war, die Gerinnungsstörung des hämophilen Blutes weitgehend aufzuheben. Sie wurde antihämophiler Faktor = AHF und in der Reihenfolge der Nummerierung Faktor VIII genannt.

AGGELER und Mitarbeiter (2) fanden 1952 einen Stoff, dessen Mangel ein hämophilieartiges Krankheitsbild verursachte. Sie bezeichneten ihn als Plasma Thromboplastin component = PTC. Etwa zur gleichen Zeit beschrieben BIGGS und McFARLANE (6) ein ähnliches Krankheits-

bild, das sie nach dem Namen des Patienten Christmas-Disease nannten - heute allgemein als Hämophilie B bezeichnet. Einen großen Fortschritt in der Gerinnungsforschung bedeutete die Ausarbeitung des Thromboplastin generation test durch BIGGS und DOUGLAS (7), der die isolierte Erfassung der Faktoren, die an der Blutthrombokinasebildung beteiligt sind, gestattet. Es konnte dadurch der Christmas-Faktor (= Faktor IX) eindeutig definiert werden als ein Stoff, der die Gerinnungsstörung des Hämophilie B-Serum normalisiert, indem er auf die Menge gebildeter Thrombokinase wirkt und nicht auf die Geschwindigkeit ihrer Bildung. Es konnte nachgewiesen werden, daß der Christmas-Faktor identisch ist mit dem PTC von AGGELER und wahrscheinlich auch mit einem von SCHULMANN (113) beschriebenen Faktor (DEUTSCH, 17).

Eine weitere hämophilieartige Gerinnungsstörung, die sich aber nicht wie die klassische Hämophilie A oder B durch einen Faktor VIII - oder IX-Mangel erklären ließ, wurde 1953 von ROSENTHAL und Mitarbeitern bei drei Patienten beobachtet. Die Untersucher postulierten einen neuen Faktor, den sie Plasma Thromboplastin antecedent (PTA) nannten. Sie konnten in den folgenden Jahren den Vererbungsmodus aufklären und die physiko-chemischen Eigenschaften des Faktors weitgehend bestimmen. Trotzdem war dieser Faktor noch bis vor kurzem einer der Umstrittensten. Die Arbeitsgruppe um JEEGERS (44), sowie BIGGS und McFARLANE (8) hielten den bei PTA-Mangel beschriebenen Gerinnungsdefekt z.B. für einen leichten kombinierten Mangel an Faktor VIII und IX. Der Nachweis, daß es sich bei dem PTA-Faktor um ein eigenständiges Eiweiß handelt, konnte 1958 im KOLLER-Labor erbracht werden. Eine durch Elektrophorese isolierte Eiweißfraktion aus dem Eluat von BaSO_4 - absorbiertem Serum war auf sämtliche bisher bekannten Gerinnungsdefekte ohne Einfluß, konnte aber die Gerinnungsstörung bei PTA-Mangel kompensieren (4). Durch

die Untersuchungen zahlreicher Gerinnungsforscher war die experimentelle Charakterisierung dieses Faktors im September 1961 so weit gediehen, daß die Internationale Nomenklatur-Kommission sie für ausreichend hielt und den PTA-Faktor mit der Nummer XI kennzeichnete. Das gleiche gilt für einen weiteren zur Thrombokinaseaktivierung notwendigen Faktor, den Hagemann-Faktor. Er erhielt die Nummer XII. Eine Zusammenstellung der Eigenschaften der beiden neuen, mit internationalen Symbolen versehenen Faktoren findet sich bei I.S. WRIGHT (128).

Unklar war auch die Existenz eines 1955 von KOLLER postulierten Faktor X, den er durch einen modifizierten Thromboplastinbildungstest nachgewiesen hatte und der eine Accelerator-Wirkung hinsichtlich der Thrombokinasebildung zeigte (19). 1957 beschrieben HOUGLE, BAKKOW und GRAHAM (39) einen Faktor, den sie nach dem Namen des von ihnen untersuchten Patienten als Stuart-Frower -Faktor bezeichneten. Er ist wie der von KOLLER beschriebene zur Bildung des Blutthromboplastins notwendig. Die Untersucher betonten ausdrücklich, daß er nicht mit dem KOLLER'schen Faktor X identisch ist, sich in wesentlichen physiologischen und physiko-chemischen Eigenschaften unterscheidet. Inzwischen wurde der Stuart -Faktor soweit charakterisiert, daß er 1959 mit dem internationalen Symbol, Nummer X, versehen werden konnte. KOLLER (23,24) beschrieb in einer späteren Arbeit einen Praephasenaccelerator (PPA), der wahrscheinlich mit seinem früheren Faktor X identisch ist. Ein internationales Symbol hat er noch nicht erhalten.

Die im Vorstehenden genannten Faktoren dienen der Bildung einer aktiven Thrombokinase⁺), welche die Gerinnung einleitet. Dabei muß man zwei grundsätzlich verschiedene Mechanismen unterscheiden. Einmal kann die Gerinnung zustande kommen unter dem Einfluß von Gewebs-

⁺) Thrombokinase = Thromboplastin.

schaft. Noch 1955 bestand die Ansicht, daß die dabei beteiligte Gewebsthrombokinase sofort nach Freiwerden aus den Gewebezellen ohne Beteiligung von Plasmafaktoren aktiv wird (16). Es gilt jedoch heute als erwiesen, daß zur vollen Aktivitätsentfaltung der Gewebsthrombokinase neben einem Gewebsfaktor und ionisiertem Calcium die Plasmafaktoren V, VII und X als Acceleratoren notwendig sind. Isoliertes Prothrombin kann in vitro auch bei Abwesenheit der Faktoren VII und X aktiviert werden, allerdings nur sehr langsam (27,36). Man bezeichnet die Gerinnung mit Gewebsthromboplastin als "extrinsic clotting system". Demgegenüber steht die Gerinnung mit Bestandteilen des Blutes selbst, das sog. "intrinsic clotting system". Die Reaktionskinetik der enzymatischen Kettenreaktion, die zur Bildung der hochaktiven Blutthrombokinase führt, ist noch keineswegs vollständig geklärt. Bekannt ist, daß die Reaktion über mehrere Zwischenprodukte läuft. Es steht dabei noch offen, ob die daraus entstehende aktive Thrombokinase überhaupt einen chemisch definierbaren Stoff darstellt oder nur als sog. Aktivität aufzufassen ist (70).

Die beteiligten Faktoren können in 3 Gruppen eingeteilt werden:

1. Sog. Plasmafaktoren: Sie werden bei der Gerinnung verbraucht und sind dementsprechend im Serum normal geronnenen Blutes nicht mehr vorhanden. Durch BaSO_4 -Adsorption werden sie nicht aus dem Plasma entfernt (Faktor V und VIII).
2. Sog. Serumfaktoren. Sie sind sowohl im Plasma als auch im Serum vorhanden, werden also bei der Gerinnung nicht verbraucht. Durch BaSO_4 -Adsorption kann man sie aus dem Plasma entfernen (Faktor IX, X und FFA). Faktor VII des extrinsic system gehört auch in diese Gruppe. FTA und Hagemann-Faktor werden nur teilweise entfernt durch BaSO_4 -Adsorption.
3. Plättchenfaktor 3 (Lipoidfaktor). Er stellt im wesentlichen den

Anteil der Thrombocyten dar, der zur Blutthrombokinasbildung notwendig ist. Rohes Kephalin oder Chloroformextrakt aus Gehirn kann ihn bis zu einem gewissen Grade ersetzen.

Auf Grund dieser und anderer unterschiedlicher physiko-chemischer Eigenschaften konnten gerinnungsanalytische Differenzierungen vorgenommen werden. So wurde mit dem Thrombokinasbildungstest die Rolle der einzelnen Faktoren bei der Bildung der aktiven Blutthrombokinas durch verschiedene Arbeitsgruppen untersucht (u.a.39,23,116,48,40,49). Entgegen früheren Anschauungen konnte nachgewiesen werden, daß Faktor VII an der Bildung der Blutthrombokinas nicht beteiligt ist (116,48,60,1), während die Faktoren V,VIII,IX,X,XI,XII neben dem Lipoidfaktor und ionisiertem Calcium zur vollen Aktivitätsentfaltung notwendig sind. Die Bedeutung der einzelnen Faktoren konnte teilweise näher bestimmt werden. So ist nach HOGUE et al. (39) der Stuart-Faktor (X) zur Bildung des Zwischenproduktes I wichtig. Der Christmas-Faktor (IX) beeinflußt die Menge des gebildeten Zwischenproduktes I, nicht aber die Geschwindigkeit ihrer Bildung (23). Die Faktoren IX und VIII sollen sich in ihrer Wirkung in vitro gegenseitig ersetzen können (71,72). Beim Studium des PTA-Mangels fanden BACHMANN et.al. (4) gleichzeitig eine Aktivitätsminderung des Christmas-Faktors.

Zugabe von Hämphilie B-Serum führte so gut wie Normalserum zu einem Aktivitätsanstieg des Christmas-Faktors. Die Untersucher zogendaraus den Schluß, daß der PTA-Faktor vor dem Christmas - Faktor in die Gerinnung eintritt und zur Aktivierung des letzteren notwendig ist. Nach neueren Untersuchungen (76,119,109) tritt der Hagemann -Faktor noch vor dem PTA-Faktor in Aktion. Seine Aktivierung soll durch Kontakt mit benetzbaren Oberflächen, möglicherweise durch Adsorption eines Inhibitors von statten gehen. Damit wäre

die Kettenreaktion in Gang gesetzt, deren Verlauf man sich heute etwa so vorstellt:

Der aktivierte Hagemann-Faktor bewirkt die Aktivierung des PTA-Faktors. Beide bilden ein labiles Produkt, welches den Christmas-Faktor aktiviert. Dieser tritt mit weiteren Faktoren zum Zwischenprodukt I zusammen. Durch Einwirkung von Thrombozytenfaktor 3 wird ein zweites Zwischenprodukt gebildet, das zusammen mit dem durch Thrombin aktivierten Faktor V die funktionsfähige Blutthrombokinasenase ergibt.

Gerinnungshemmung

1. Körper-eigene Gerinnungshemmer.

Experimentelle Untersuchungen haben die Annahme wahrscheinlich gemacht, daß intravasal ständig eine latente Gerinnung stattfindet. Sie soll in der Plasmarandzone ablaufen (70) und zur Ablagerung feinsten Fibrinhäutchen auf den Gefäßendothelien führen. Die Tatsache der Flüssighaltung des Blutes auf der einen Seite und das Bestehen einer ständig ablaufenden wohldosierten Gerinnung auf der anderen, ist gegeben durch ein kompliziertes Zusammenspiel zwischen gerinnungsfördernden und -hemmenden Mechanismen. Den Gerinnungsfaktoren steht ein System von Inhibitoren gegenüber. Nach SEEGER (102, 103, 104) enthält das Plasma 4 Faktoren mit Antithrombinwirkung. Ein beträchtlicher Anteil der antithrombotischen Wirkung des Plasmas beruht auf Adsorption des überschüssigen Thrombins durch Fibrin selbst (Antithrombin I). Als Antithrombin II bezeichnet SEEGER einen Eiweiß-cofaktor, der als prosthetische Gruppe Heparin enthält. Dieses Heparinantithrombin stellt den sofort wirkenden Thrombininhibitor dar, der die Fähigkeit besitzt, Thrombin zu neutralisieren, bevor es mit Fibrinogen in Reaktion getreten ist. Das An-

tithrombin III von SEEGERs ist das langsamer wirkende Progressiv-antithrombin, welches überschüssiges Thrombin in das inaktive Metathrombin überführt. Als vierten Inhibitor nennt SEEGERs einen Antithrombin-Accelerator. Er ist im Plasma nach Cumarinbehandlung vermindert (18). LOELIGER (65) beschrieb ein Antithrombin V, welches ähnlich schnell wie das Heparinantithrombin wirkt, aber nicht wie dieses durch Protamin inaktiviert wird. An Abbauprodukten des Fibrins hat KOWALSKI (86) ebenfalls eine Antithrombinwirkung nachweisen können (Antithrombin VI).

Daneben sind noch eine Anzahl Hemmkörper der Vorphase beschrieben worden, die nur teilweise im Plasma Gesunder vorhanden sind, teilweise die Krankheitsbilder der Hemmkörperhämophilien verursachen.

2. Medikamentöse Gerinnungshemmung.

Die Annahme, daß der Thromboseentstehung eine Korrelationsstörung im Thrombin-Antithrombin-Gleichgewicht zugrunde liege, bestand schon lange. Man war entsprechend bemüht, der Thrombose durch Erhöhung des Antithrombintiters entgegen zu wirken. Im Hirudin fand HAYCRAFT (35) einen Stoff, der zumindest in vitro als Antithrombin wirkte. Bedeutungsvoller war das 1916 von McLEAN (81), HOWELL und HOLT (41,42) entdeckte Heparin, das heute seinen festen Platz in der Behandlung thrombo-embolischer Erkrankungen hat. Es wurde von MURRAY (84) und CRAFOORD (15) erstmalig therapeutisch angewandt.

Eine andere Möglichkeit der Gerinnungshemmung ist gegeben durch Herabsetzung gerinnungsfördernder Faktoren. Es ist das Wirkungsprinzip der Cumarinderivate. Die antikoagulativen Fähigkeiten dieses Stoffes wurden durch die Süßkleekrankheit der Rinder bekannt. Nach Verfütterung verdorbenen Süßklee beobachtete SCHOFFIELD (112)

schwere hämorrhagische Diathesen. RODERICK (100) und QUICK (96,97) konnten als Ursache eine starke Abnahme des Prothrombingehaltes im Blut nachweisen. Die Reindarstellung jenes antikoagulativen Stoffes, des 3,3-methylen-bis (4-oxycumarin) aus Melilotus-Heu gelang CAMPBELL et al. (13). 1941 wurden erstmals Untersuchungen am Menschen durchgeführt.

Wirkungsweise der Anticoagulantien vom Typ der Cumarinderivate:

Der Angriffspunkt der Cumarine ist die Leber. Es scheint dabei, daß ein kompletter Antagonismus zum Vitamin K₁ besteht. Durch Cumarine werden sämtliche Faktoren im Plasma vermindert, für deren Synthese Vitamin K notwendig ist (56). Der Mechanismus der Vitamin-K-Wirkung ist noch ungeklärt. Man nimmt an, daß das Vitamin die prosthetische Gruppe eines in der Leberzelle synthetisierten Fermentsystems darstellt, welches die Bildung mehrerer Plasmafaktoren katalysiert. Cumarine sind der kompetitive Hemmer dieses Systems. Diesem fermentativen Wirkungsmechanismus entsprechend tritt die Anticoagulantienwirkung erst nach einer Latenzzeit von 48-72 Stunden ein und bereits gebildete Faktoren werden nicht beeinflusst.

Nach heute gültiger Ansicht werden durch Cumarine die Faktoren II, VII, IX und X in ihrer Aktivität herabgesetzt. Faktor V bleibt unverändert (u.a. 90, 56, 16). Man glaubte längere Zeit, daß nur Prothrombin und Faktor VII beeinflusst wurden und legte dabei das Hauptaugenmerk auf Faktor VII. Dieser sinkt zu Beginn der Anticoagulantien-Therapie am raschesten ab und hat nach etwa 48 Std. seinen minimalen Wert erreicht (56). Die Prothrombinkonzentration sinkt wesentlich langsamer und ist nach KOLLER (56) erst nach 6-10 Tagen am Tiefpunkt angelangt. Das unterschiedliche Verhalten ist bedingt durch eine unterschiedliche Lebensdauer der Faktoren im Kreis-

lauf. Bei Blockierung bzw. Hemmung ihrer Synthese sinkt die Konzentration der Faktoren entsprechend ihrer Halbwertszeit. Sie ist bei Faktor VII am kürzesten, etwa 5 Std., dann folgt Faktor IX mit einer HWZ von 24-30 Std. und Faktor X mit 45-48 Std., zuletzt Prothrombin mit einer HWZ von ca. 60-80 Std. (66,79). Mit der näheren Charakterisierung des Christmas-Faktors begann man auch dessen Verhalten bei Anticoagulantien-Therapie zu untersuchen. STAFF (110) fand mit einer Einphasenmethode den Plasmaspiegel auf 10-15% gesenkt. NAYE (85) beschreibt eine Reduktion nicht unter 20%. SISE et al. (105) sahen eine Senkung des Faktor IX nicht bei allen Patienten. Bei JOHNSON und SEEGERs finden sich unterschiedliche Angaben. Zunächst beschrieben sie eine Senkung auf Null-Werte bei therapeutischen Dosen (45). In einer späteren Publikation von JOHNSON (46) fand dieser keine signifikante Minderung des Faktor IX, während JOHNSON und SEEGERs (47) im gleichen Jahre mitteilten, daß Sintrom, Phenylindandion und Dicumarol den Faktor IX stark herabsetzen, dagegen Dipaxin, Marcumar, Tromexan und Cyclocumarol keinen signifikanten Effekt hätten. VERSTRAEPE und VANDENBROCKE (117) fanden eine Senkung des Faktor IX bei Tromexan und Marcumar. Diese etwas differierenden Werte der einzelnen Autoren sind durch eine unterschiedliche Methodik der Faktor IX-Bestimmung bedingt und sind der Ausdruck der Schwierigkeit der Faktor IX-Bestimmung. Als HOUGIE et al. (39) den Stuart-Defekt charakterisierten, beschrieben sie bei Dicumarol-Patienten ein Defizit des Faktor X, was von anderer Seite vielfach bestätigt wurde. Von verschiedenen Autoren wurde angenommen, daß der Stuart-Faktor (X) durch Cumarine stärker herabgesetzt würde als die übrigen Faktoren. Erst in letzter Zeit hat LOELIGER (67) in einer umfassenden Arbeit nachgewiesen, daß bei Dauerbehandlung mit dem langwirkenden Cumarinderivat Marcumar eine statistisch signifikante Differenz in

der Senkung der Aktivität der Faktoren II, VII, IX und X nicht besteht. Die Aktivität aller vier Faktoren soll bei einer 2,5fachen Verlängerung der Prothrombinzeit auf etwa 20% herabgesetzt sein.

Die Anticoagulantien vom Typ der Cumarinderivate wirken somit der Thrombinentstehung entgegen. Bei therapeutischer Dosierung sind jedoch stets Spuren von Thrombin vorhanden, die im Falle einer Verletzung der Gefäßintegrität die sog. viskose Metarotose der Thrombozyten auslösen (69, 12), womit eine Impermeabilität des Plättchenthrombus erreicht wird, die zur Blutstillung führt. Es wird durch Cumarine die Bildung des Gerinnungsthrombus, nicht aber des Plättchenthrombus verhindert. Dadurch sind auch die relativ geringfügigen Veränderungen im Thrombelastogramm (TEG) im Gegensatz zur Heparinmedikamentation zu erklären (59). Therapeutische Dosen des letzteren verursachen tiefgreifende Veränderungen im TEG, während es unter Dicumarol nur zu einer Verlängerung der Reaktions- und Koagulationszeit kommt, die ma-Werte (maximale Elastizität) dagegen annähernd normal sind.

Da es zum Verständnis der Probleme der Anticoagulantientherapie von Bedeutung ist, soll noch kurz auf die Beziehung zwischen physiologischem Blutstillungsmechanismus und Blutgerinnung eingegangen werden. Sowohl das extrinsic- als das intrinsic system sind am Zustandekommen der Blutstillung beteiligt. Nach den Untersuchungen von BIGGS (9) soll die Kontaktphase bei der normalen Hämostase wenigstens teilweise durch Gewebsextrakt induziert werden.

Über die Vorgänge beim Verschuß verletzter Gefäße liegen eine Reihe von vitalmikroskopischen, kinematographischen und histologischen Beobachtungen vor (14,24,43,31). Man kann den Ablauf der Blut-

stillung an den kleinen muskulären Gefäßen in drei Phasen einteilen (124). In der ersten kommt es zum Haften der Thrombozyten an der Wundoberfläche und deren reversibler Zusammenballung. Nach in vitro-Versuchen von GAARDER et al. (28) spielt dabei ADP eine entscheidende Rolle. Die zweite Phase ist gekennzeichnet durch die Ausbildung des weißen - oder Plättchenthrombus, der die Wunde pilzförmig überragt (125). Unter der Wirkung erster Thrombinspuren kommt es zur irreversiblen Verklumpung und viskösen Metamorphose der Blutplättchen. Es werden dadurch neben vasoaktiven Substanzen wie Serotonin und Noradrenalin gerinnungsfördernde Plättchenfaktoren frei. In der dritten Phase vollzieht sich die Gerinnung des Plasmas (roter - oder Gerinnungsthrombus). Sie ist für den momentanen Stillstand der Blutung nicht erforderlich, sondern dient der Festigung des Gefäßverschlusses und verhindert ein Nachbluten. Die Plasmagerinnung hat somit vom Standpunkt der Blutung aus nur sekundäre Bedeutung. Es muß allerdings genügend Thrombin vorhanden sein, damit die visköse Metamorphose vollständig bis zu Ende ablaufen kann, da sonst der Plättchenthrombus durchlässig bleibt. Auch das Fibrin scheint dabei eine Rolle zu spielen, wie Untersuchungen bei Afibrinogenämie (SOKAL, 106) zeigen. Hier fehlt die Endphase der viskösen Metamorphose; die kontrahierten Plättchenagglutinate beginnen sich nach einigen Stunden zu lockern und aufzulösen.

Die Schwierigkeit der Anticoagulantientherapie liegt in der Auffindung des schmalen Bereiches, in dem die Plasmagerinnung möglichst weit eingeschränkt ist bei gleichzeitigem Erhaltensein der Blutstillungsfähigkeit.

Schwierigkeit des Kontrolltestes.

Seit der Einführung der Cumarine in die Therapie beschäftigte

Kliniker und Gerinnungsforscher die Herausfindung eines geeigneten Kontrolltestes. Es ist dies besonders schwierig, da unsere Kenntnisse über die Vorgänge der Thrombose- und Blutungsentstehung unzureichend sind und wir uns einer empirischen Blutanalyse bedienen, ohne dabei die Natur der komplizierten chemischen Vorgänge zu erkennen. Infolgedessen bestehen teilweise unterschiedliche Meinungen darüber, welche der spezifischen durch Anticoagulantien bewirkten Veränderungen innerhalb des Gerinnungssystems kontrolliert werden sollen, um eine Auskunft über den erreichten Thromboseschutz einerseits und die Gefahr einer Blutung andererseits zu erhalten. Bei Abwägung der Vor- und Nachteile der verschiedenen Kontrollmethoden und zur Herausfindung einer optimalen Methode ist eine Orientierung über die relative Bedeutung der einzelnen innerhalb des Gerinnungssystems von Wichtigkeit.

BORCHGREVINK und WAALER (10) arbeiteten eine Methode zur Bestimmung der Nachblutungszeit (sekundäre Blutungszeit) aus, die zusammen mit der üblichen, von ihnen entsprechend als primäre Blutungszeit bezeichneten Bestimmungsmethode ein gutes Maß für die Leistungsfähigkeit des Blutstillungsmechanismus abgeben soll. Im standardisierten Verfahren wird zunächst die primäre Blutungszeit bestimmt. Nach 24 Std. entfernt man den Blutschorf vorsichtig mit einem Skalpell und mißt die Blutungszeit. Sie beträgt im Normalfalle 0-6 Minuten. Störungen im intrinsic system spiegeln sich in einer verlängerten sekundären Blutungszeit wieder - es bestehen Nachblutungstendenzen.

Bei Patienten mit angeborenem Faktor V-Mangel fanden die Untersucher die primäre Blutungszeit an der oberen Grenze der Norm, die sekundäre deutlich verlängert. Demgegenüber zeigte sich bei angeborenem Faktor VII-Mangel die primäre und auch die sekundäre Blutungszeit normal. Der Gerinnungsdefekt bei diesen Patienten war

folgendermaßen charakterisiert: Quickwert 60 - 70 Sec.(normal 13 - 14 Sec.), F&P-Werte 10%, normale Russel-viper-venom-Zeit, normale Cephalinzeit. Es erhellt hieraus die Bedeutungslosigkeit des Faktor VII für Blutung bzw. Blutstillung, sofern die übrigen Faktoren nicht unter ihren kritischen Wert gesunken sind. Kommt zu einem hochgradigen Faktor VII-Defizit noch ein Absinken des Faktor IX unter seinen kritischen Wert von etwa 8% hinzu, entsteht eine Verlängerung sowohl der primären als auch der sekundären Blutungszeit mit hohem Blutungsrisiko. Bei isolierter Verminderung des Faktor IX bei Hämophilie B-Patienten auf Werte um 8 - 12% ist die sekundäre Blutungszeit deutlich verlängert. Bei Werten über 15% ist sie normal. Eine Senkung des Stuart-Faktors unter 5% führt unabhängig von der Konzentration anderer Faktoren zu einer Verlängerung der primären Blutungszeit mit entsprechendem Blutungsrisiko.

Die gleiche Arbeitsgruppe (11) führte Untersuchungen bei Patienten mit echter hereditärer Hypoprothrombinämie durch. Sie fanden bei einem Prothrombinspiegel von 9 - 10% die Blutungszeiten normal, die Blutungsneigung also gering. Der kritische Prothrombinspiegel scheint unter 10% zu liegen. Da bei Anticoagulantientherapie eine isolierte Senkung des Prothrombins unter 10% bei Erhaltensein der übrigen Faktoren über ihrem kritischen Wert praktisch nicht vorkommt, scheint nach OWREN die Kontrolle des Prothrombins selbst weniger wichtig zu sein. Die Arbeitsgruppe um OWREN schließt aus diesen Untersuchungen, daß zur Blutungsprophylaxe bei AK-Therapie in erster Linie die Kontrolle der Faktoren IX und X wichtig ist.

Quickwert als Kontrollmethode.

Die als Quickwert oder Prothrombinzeitbestimmung bekannte Methode war zu Beginn der Anticoagulantientherapie der gebräuchlichste

Kontrolltest und ist es wohl auch heute noch. Daß er brauchbar ist, hat die Praxis erwiesen.

Als QUICK 1935 (98) diese Methode ausarbeitete, glaubte er entsprechend der damaligen Vierfaktorentheorie nur das Prothrombin zu bestimmen. Mit Erweiterung der Gerinnungstheorie wurde sichtbar, daß ein Komplex von Faktoren erfaßt wird. Nach dem Vorschlag verschiedener Gerinnungsforscher (WITTS 127, MARBET-WINTERSTEIN 73) nennt man die Methode heute besser Thromboplastinzeitbestimmung, da die Zugabe des Gewebsthromboplastins im Überschuß das Neuartige war, wodurch eine Verkürzung der Gerinnungszeit bei Normalblut auf 11 Sec. erreicht wurde.

Modifikationen der Originalmethode wurden angegeben von LEHMANN (62), der die Anwendung von Zitratblut inaugurierte, MONTIGEL (82) HALSE (32), JURGENS (50), MARX-BAYERLE (72), FETTER (28), MARBET-WINTERSTEIN (74), SOULIER (107) u.a.. Alle Varianten beruhen auf dem gleichen Prinzip, der Zugabe von Gewebsthrombokinase im Überschuß und Messung der Gerinnungszeit bei optimaler Ca^{++} -Konzentration und konstanter Temperatur. Durch Zusatz des Thromboplastinpräparates wird die Wirkung des Blutthromboplastins überdeckt und für die ablaufende Gerinnung bedeutungslos. Dadurch kann auch die Aktivität der ausschließlich an seiner Bildung beteiligten Faktoren nicht mehr erfaßt werden. Der Einfluß des intrinsic system wird ausgeschaltet. Die gemessene Gerinnungszeit ist im wesentlichen ein Maß für die Funktionstüchtigkeit des extrinsic system. Sie wird beeinflusst durch Prothrombin, Faktor VII, X, V, Fibrinogen und Heparin-Antithrombin. Das Ausmaß der Beeinflussung der einzelnen Faktoren hängt von der Natur des verwendeten Thromboplastinpräparates ab. Dabei ist neben der Herkunft auch die Art der Gewinnung maßgebend. Thromboplastin kommt in fast allen Körperzellen vor. Es ist besonders reichlich in der grauen Substanz

des Gehirns, in der Lunge, Plazenta, Schilddrüse und dem Gift der Russellviper vorhanden und kann aus diesen Geweben extrahiert werden.

Da das Ergebnis der Quickwertbestimmung sehr wesentlich von der verwendeten Thrombokinese abhängt (64,83,99), ist die Wahl eines geeigneten Thromboplastinpräparates der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und Kontroversen gewesen. Unabhängig von der Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Faktoren muß eine brauchbare Thrombokinese nach THIES (114) eine gute Thromboplastinbreite besitzen. Er versteht darunter die Sekundendifferenz eines 100%igen und eines auf 25% verdünnten Plasmas. Mit unverdünntem Plasma soll die Thromboplastinzeit möglichst kurz sein, weil Thrombokinasen dieser Qualität neben der guten auch eine konstantere Aktivität besitzen. Die Thromboplastinzeit des 25%igen Plasmas dagegen muß groß genug sein, da sonst methodische Fehler zu sehr ins Gewicht fallen.

LOELIGER (64) untersuchte gebräuchliche Thrombokinesepräparate hinsichtlich ihrer Faktor-VII-Empfindlichkeit. Er fand eine gute Widerspiegelung der Faktor VII-Aktivität bei Menschenhirnthrombokinese nach OWREN und Kaninchenlungen-Thrombokinese "Roche", eine schlechte dagegen bei Thrombokinese "Geigy". Zu entsprechenden Ergebnissen gelangte MONTIGEL (83), der neben Hirn- und Lungen-Thrombokinese Geigy noch Russellviperngift untersuchte. Letzteres ist in seiner Aktivität vollkommen unabhängig vom Faktor-VII-Gehalt (vergl. DEUTSCH 16 und RAPAPORT 99). Umgekehrt ist nach MONTIGEL die Empfindlichkeit gegenüber Faktor X bei Schlangengift am größten, bei Thrombokinese Geigy gut und bei Hirnthrombokinese nur schwach vorhanden. Prothrombinspiegelveränderungen zeigten alle Präparate empfindlich an. Auf Faktor-V-Veränderungen reagierten nur Hirn-Thromboplastin.

Kritik: Die Kritik an der Methode bezog sich zunächst nur auf die unterschiedliche Empfindlichkeit der Thromboplastinpräparate. Es wurde besonderer Wert auf gute Ansprechbarkeit gegenüber Faktor VII gelegt (115,64,79). Man argumentierte in der Richtung, daß bei Gebrauch einer Faktor VII unempfindlichen Thrombokinase ein zu Beginn der Behandlung oft überschießendes Absinken des Faktors - bedingt durch seine kurze Halbwertszeit - nicht erkannt würde und hämorrhagische Komplikationen ausgelöst werden könnten. Das trifft in sofern zu, als durch einen von der Norm wenig abweichenden Quickwert die anfängliche Dosierung zu hoch fortgesetzt werden konnte, wodurch es zu einer vollständigen Blockierung der Synthese aller Faktoren kommt mit einem Absinken der Faktoren IX und X unter den kritischen Wert und entsprechender Blutungsgefahr.

Um den Unzulänglichkeiten, die einmal durch Thromboplastinpräparate verschiedener Provenienz gegeben sind und zum anderen in der Beeinflussbarkeit der Methode durch den Heparin-Antithrombinspiegel und teilweise den labilen Faktor V bestehen, aus dem Wege zu gehen, wurden Methoden zur isolierten Bestimmung des Prothrombin-Faktor-VIII-Komplexes ausgearbeitet (I&F-Methode nach S. FEN, 90; Einphasenmethode nach KOLLER, 57). Es wurden gute Erfolge in der Praxis der Anticoagulantien-Kontrolle mit der P&F-Methode beschrieben (91). Die Resultate werden durch gleichzeitige Heparin-gabe und längeres Stehen nicht beeinflusst. Die Methode ist aber in der Handhabung nicht einfach genug und erfaßt das intrinsic system nicht.

Die spätere Kritik an der Quickmethode richtete sich vor allem gegen die Nichterfassung des intrinsic system. Es wurde von verschiedener Seite (52,59,83,51) auf die besondere Bedeutung der Faktoren X und IX für die intravasale Gerinnung hingewiesen. Weiterhin wurde klar gestellt, daß die Konzentration des Faktor VII, der als Akti-

vator der Gewebethrombokinasen bei der intravasalen Gerinnung keine Rolle spielt, eine Aussage über den erreichten Thromboseschutz nicht zuläßt und auch für die Erfassung einer Blutungsgefahr von untergeordneter Bedeutung ist. Es wurde betont, daß man mit der Quickmethode nur ein ungenaues Bild der Gerinnungsverhältnisse unter Anticoagulantien-Einfluß erhält. Sie liefert durch Anzeigen zweier durch Anticoagulantien beeinflusster Faktoren (II, VII) nur einen Gradmesser für die Aktivität der weiteren zwei für die Thrombogenese wichtigen Faktoren IX und X. Da die Parallelität zwischen beiden Faktorengruppen keine absolute ist, ist das gelegentliche Auftreten von Thromboserezidiven oder Blutungen bei optimal eingestellten Quickwerten nicht verwunderlich.

Um eine größere Sicherung zu erreichen, müßten beide Gerinnungssysteme kontrolliert werden. So ist von verschiedenen Seiten neben der Quickwertbestimmung die routinemäßige Mitbestimmung des intrinsischen Systems durch den Heparintoleranztest (SOULIER 108, MARBET-WINTERSTEIN 75), die Thrombelastographie (HARTERT 33) oder die Fekalifizierungszeit (LOELIGER) vorgeschlagen worden. Einige Kliniken sind heute zu diesen Doppelbestimmungen übergegangen (51, 38, 64, 54, 53). Für einen großen Routinebetrieb sind sie jedoch zu aufwendig. Außerdem sind die globalen Gerinnungsteste sehr empfindlich und deshalb in der Durchführung oft fehlerhaft. Sie werden durch eine Anzahl Faktoren beeinflusst, die durch Anticoagulantien nicht verändert werden.

Der Bedeutung des Faktor X Rechnung tragend, schloß KOLLER (69) vor, diesen neben dem Quickwert mitzubestimmen oder evtl. die Kontrolle der Anticoagulantien-Therapie allein durch Bestimmung des Faktor X mit Russell Viper Venom-Stypven vorzunehmen.

Thrombotest als Kontrollmethode

1959 entwickelte OWREN (91) unter dem Namen Thrombotest eine neue Methode zur Kontrolle der Anticoagulantien-Therapie. Sie nimmt für sich in Anspruch, den totalen durch Anticoagulantien hervorgerufenen Gerinnungsdefekt zu erfassen. Die Unmöglichkeit der Berücksichtigung des intrinsic system ist bei der Quickmethode durch den schnellen Gerinnungsablauf, der durch Zugabe des Gewebsthromboplastins im Überschuß zustande kommt, gegeben. Das intrinsic system ist unter diesen Umständen an der Thrombinbildung nicht beteiligt. OWREN erreichte die Beteiligung beider Systeme dadurch, daß er das intrinsic system durch Zugabe einer aktiven Cephalinzubereitung in seiner Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigte, während das extrinsic system durch ein Thromboplastinpräparat mit niedrigerer Aktivität verlangsamt wurde.

Sämtliche zur Bestimmung erforderlichen Substanzen befinden sich in einem Reagens, "all-in-onereagent", was ein großer praktischer Vorteil ist.

Bestandteile des Thrombotest-Reagens:

1. Rohes Cephalin, aus Menschenhirn oder Sojabohnen extrahiert.

Die damit gemessene Gerinnungszeit an Normalplasma beträgt 40-50 Sec. - Mit diesem Teil des Reagens wird praktisch die Cephalinzeit (partielle Thromboplastinzeit) bestimmt. Dieser Test ist in der Gerinnungsforschung als Maß des blutthrombokinasbildenden Potentials schon lange gebräuchlich. Seiner breiteren Anwendung standen die relativ langen Gerinnungszeiten und die Schwierigkeit der Zubereitung standardisierten Cephalins im Wege.

2. Thromboplastin aus Ochsen- oder Pferdegehirn mit einer guten Empfindlichkeit gegenüber den Faktoren VII und X. Die Gerinnungszeit mit diesem Präparat beträgt 35-45 Sec.. Cephalin- und Thromboplas-

tinzeit stimmen also praktisch überein, wodurch die gleichmäßige Beteiligung beider Systeme gegeben ist.

3. Rinder-Adsorptivplasma. Es enthält alle nicht durch AK beeinflussten Faktoren in geeigneter Konzentration und ist auf einen pH von 7.3 stabilisiert. Es ist frei von den vier zu bestimmenden Faktoren.

4. CaCl_2 in optimaler Konzentration.

Die Substanzen sind gemeinsam lyophilisiert als Trockenampullen im Handel erhältlich.

Die Bestimmung kann an Kapillarblut, Zitratvenenblut oder -plasma durchgeführt werden. Bei Verwendung von Kapillarblut wird das Trockenpulver in einer vorgeschriebenen Menge Aqua dest. aufgelöst, beim Arbeiten mit Zitratblut oder -plasma in einer verdünnten CaCl_2 -Lösung. Zitratplasma verdünnt OWREN 3:2 mit physiologischer Kochsalzlösung und verwendet zum Ablesen der Prozente die Vollbluteichkurve. Die Messung der Gerinnungszeit erfolgt im Wasserbad von 37°C . Zunächst werden 0,5 ml Thrombotestreagens mindestens 3 min., nicht länger als 30 min. vorgewärmt. Mit der Zugabe von 0,1 ml Zitratblut oder Plasma wird die Stoppuhr in Gang gesetzt und der Gerinnungseintritt durch Neigen des Reagensröhrchens ermittelt. Später gab OWREN (92) an, daß der Testansatz bei gleicher Genauigkeit der Ergebnisse halbiert werden könne. (0,25 ml Reagens + 0,05 ml Plasma). Die gemessene Gerinnungszeit wird wie bei der Quickmethode anhand einer durch Verdünnung von Normalblut ermittelten Eichkurve in % der Norm umgerechnet. Als therapeutisches Optimum gab OWREN ursprünglich Werte zwischen 10 - 30% an (91). Er reduzierte später den oberen Grenzwert auf 20% (93).

Die Empfindlichkeit der Methode gegenüber den Faktoren IX und X

im Gegensatz zum Quick belebt OWKEN durch vergleichende Untersuchungen mit beiden Methoden bei jeweils feststehender, niedriger Aktivität des Faktor IX bzw. X (93).

OWKEN empfiehlt die Verwendung von Plastikröhrchen oder silikoniertem Glas, um eine Kontaktaktivierung beim längeren Stehen zu vermeiden. Nach seinen Angaben (91) ist die Verkürzung der Gerinnungszeit bei 5 stündiger Aufbewahrung in normalen Glasgefäßen mit der Thrombotestmethode nicht wesentlich größer als beim Quick. Die Kontaktaktivierung führt bei Normalblut zu einem größeren Anstieg der %-Werte als bei Anticoagulantien-Blut.

In Plastikröhrchen soll das Blut ohne Änderung der Thrombotestzeit 2 Tage aufbewahrt werden können. Eine Inaktivierung der Faktoren V und VIII soll die Methode nicht beeinflussen, da beide Faktoren im Reagens in hoher und stabiler Konzentration enthalten sind.

Die Eichkurve als Bezugssystem

Beide Methoden arbeiten mit Eichkurven. Man mißt z.B. mit einem auf 20% verdünntem Plasma eine bestimmte Gerinnungszeit in Sekunden. Hat man nun ein Patientenplasma mit dem gleichen Sekundenwert, so schließt man rücklaufend auf eine 20%ige Gerinnungsaktivität. Dieser Schluß wird übereinkunftsmäßig getan, wobei man sich im klaren sein muß, daß es wissenschaftlich nicht exakt ist. Es sind zwei verschiedenartige Gegebenheiten, einmal ein durch Marcumar v e r ä n d e r t e s Plasma, zum anderen ein auf einen bestimmten Prozentsatz v e r d ü n n t e s Plasma, die zueinander in Beziehung gesetzt werden.

Amerikanische und angelsächsische Autoren lehnen aus diesen Gründen vielfach die Umrechnung der Sekundenwerte in Prozent anhand

einer Eichkurve ab (101,80). Sie setzen die gemessene Gerinnungszeit des Patientenplasmas zu einem unverdünnten Normalplasma in Beziehung und geben an, um wieviel sie gegenüber diesem Normalplasma verlängert ist.

Über die Wahl des Verdünnungsmittels zur Herstellung der Eichkurven ist viel diskutiert worden, ohne allerdings zu einem befriedigendem Ergebnis zu gelangen. Nach WALTER und SCHMUTZLER (123) soll die Verdünnung mit Puffer keinen wesentlichen Vorteil gegenüber der Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung haben. Bei beiden führt die Verdünnung zu einer Herabsetzung aller Faktoren einschließlich des die Quickmethode beeinflussenden Fibrinogen und Faktor V, während am Patientenblut nur die durch Marcumar beeinflussten Faktoren vermindert sind. Es soll dadurch eine zu steile Kurve resultieren, die in der höheren Verdünnung nach oben abknickt. Die Verwendung von gealtertem BaCO_3 -Plasma oder Faktor-V-Lösung als Verdünnungsmittel ist vorgeschlagen worden, wobei das Adsorptivplasma zu einer günstigeren (flacheren) Kurve führen soll. Es wird in verschiedenen Laboratorien (76,81) heute benutzt. SCHMUTZLER (123) berichtet, daß Patientenblut zu einer noch flacheren Kurve führt. Bei Benutzung der steileren Eichkurven ergeben sich entsprechend zu hohe Prozentwerte. Nach MARBET und WINTERSTEIN (zitiert bei THIES 114) soll es für die Praxis gleichgültig sein, ob die Verdünnung mit Kochsalz oder mit Faktor-V-Lösung geschieht.

Bei der Thrombotestmethode scheint die Frage des Verdünnungsmittels dadurch zu einer günstigeren Lösung gebracht zu sein, daß im Reagens alle nicht durch Anticoagulantien beeinflussten Faktoren durch Zusatz von Rinderadsorptivplasma im Überschuß enthalten sind.

F r a g e s t e l l u n g

OWREN gibt an, daß seine Thrombotestmethode sich gegenüber der

Quickwertbestimmung durch eine spezifischere Erfassung des durch Cumarine gesetzten Gerinnungsdefektes auszeichne. Dadurch sei sie geeignet, Blutungsneigungen besser anzuzeigen, wodurch die Zahl der Blutungszwischenfälle herabgesetzt werden können.

Einerseits wird die Brauchbarkeit der Methode zur Erfassung des Faktor IX von EGLI (21,22) angezweifelt, zum anderen konnte LOELI-GAR (68) an einem größeren Krankengut Vorteile des Thrombotest gegenüber der Quickwertbestimmung im Sinne einer besseren Erfassung und damit Verhütung von Blutungszwischenfällen nicht feststellen.

Da die Frage von großer praktischer Bedeutung ist, sollten in dieser Arbeit beide Methoden miteinander verglichen werden und ihre Brauchbarkeit in der Praxis der Anticoagulantientherapie geprüft werden.

EXPERIMENTELLER TEIL

Material und Methoden

Die Untersuchungen wurden an 243 Patienten, die unter Langzeittherapie mit Marcumar^R(3(1-phenyl-propyl-4-oxycumarin)) standen, durchgeführt. Die Mehrzahl der Patienten stand über 2 Jahre in Behandlung, keiner weniger als 2 Monate. Die Indikation zur Marcumarbehandlung war bei einem Großteil durch obliterierende Arteriopathien der peripheren Gefäße, sowie durch abgelaufene Herzinfarkte gegeben, weiterhin durch recidivierende Thrombophlebitiden.

Reagenzien für die Quickmethode:

1. 3,8% Na-Zitratlösung
2. CaCl_2 -Lösung, 0,05 M
3. Thromboplastinlösung "Roche" (gebrauchsfertige Thrombokinase-lösung mit Stabilisator in Ampullen)

Reagenzien für die Thrombotestmethode:

1. 3,8% Na-Zitratlösung
2. CaCl_2 -Lösung, 7,5mM
3. Thrombotestreagens von der Firma Nyegaard & Co., Oslo - Trockenampullen.

Für beide Methoden:

1. Veronalpuffer pH 7,3 nach Michaelis (zur Herstellung der Eichkurven).
2. Wasserbad mit Thermostat und Rührwerk, Reagenzgläser, Flatinösen.

Bestimmung der Thromboplastinzeit mit der Einphasenmethode
nach QUICK.

Zur Anwendung kam eine Modifikation der Original-quickmethode, wie sie im wesentlichen von MARA und BAYERLE (77) entwickelt wurde. Sie hat sich seit Jahren im ambulanten Routinebetrieb gut bewährt. Das Blut wird durch Venenpunktion wie zur Westergren-Blutsenkung entnommen; es ergibt sich eine Zitrat-Blut-Mischung von 1:5 (0,4 ml Zitrat + 1,6 ml Blut). Sofort nach der Blutentnahme erfolgt Zentrifugierung bei 3 000 U für 7 min.. Danach Abhebern des Plasmas. 0,1 ml Plasma wird jeweils in ein Röhrchen von ca. 7 mm Weite und 60 mm Länge pipettiert und im Wasserbad von 37° C etwa 60 sec. vorgewärmt. Die Thromboplastinlösung, die 1:1 mit 0,05 molarer CaCl_2 -Lösung gemischt wurde, wird ebenfalls vorgewärmt. Von diesem Gemisch gibt man 0,2 ml mit einer Tuberculinspritze zum Plasma, setzt die Stoppuhr in Gang und beginnt eine gut ausgeglichene Fließbewegung gleichmäßig, etwa 2 - 3 mal pro sec. durch die Flüssigkeit zu ziehen. Beim Hängenbleiben des ersten Fibrinfaden an der Nase wird gestoppt. Von jeder Plasmaprobe wurden Doppelbestimmungen gemacht und die Sekunden-Mittelwerte anhand der Eichkurve in % der Norm umgerechnet.

Bestimmung der Gerinnungszeit mit Thrombotestreagens nach OWREN.

Die OWREN'sche Originalmethode (siehe S.21) wurde etwas modifiziert, so daß die technische Durchführung praktisch der der Quickbestimmung entsprach. Es wurde dies zur Anpassung an den Routinebetrieb und zur Ersparung einer größeren Umstellung der technischen Kräfte getan.

Die Bestimmungen werden am unverdünnten Zitratplasma durchgeführt und zwar an dem gleichen, welches auch zur Quickwertbestimmung verwendet wurde. Die Zitrat-Blut-Mischung beträgt also 1:5. OWREN

hatte bei einem Zitrat-Blut-Verhältnis von 1:10 eine 3,2mM CaCl_2 -Lösung vorgeschrieben. Die Umrechnung entsprechend den veränderten Bedingungen führt zur Benutzung einer 7,5mM CaCl_2 -Lösung. Das Trockenpulver einer Thrombotestampulle wird bei Verwendung der kleinen Ampullen in 2,2 ml, beiden größeren in 11 ml dieser CaCl_2 -Lösung aufgelöst. Die fertige Lösung wird in kleinen Portionen im Wasserbad von 37° C vorgewärmt, damit sie nur maximal 30 min. im Wasser von 37° C steht. Jede Plasmaprobe, 0,05 ml in Röhrchen wie bei der Quickwertbestimmung, kommt zur Vorwärmung für 1 - 1 1/2 min. ins Wasserbad. Sodann gibt man 0,25 ml Thrombotestreagens mit der Tuberculinspritze hinzu, setzt die Stoppuhr in Gang und sorgt mit der Platinöse für regelmäßiges Vermischen der Flüssigkeit. Beim Hängenbleiben des ersten Gerinnsels wird gestoppt. Von jeder Plasmaprobe werden Dreifachbestimmungen gemacht und die Mittelwerte anhand der Eichkurve in % der Norm umgerechnet.

Quick- und Thrombotestbestimmungen wurden in nicht silikonierten Glasgefäßen vorgenommen. Es wurde versucht, eine zeitliche und auch sonst größtmögliche Normierung in der Durchführung zu erreichen. Die Untersuchungen waren im Allgemeinen spätestens 5 Std. nach Blutentnahme abgeschlossen.

Herstellung der Eichkurven

Das Plasma von 8-10 Normalpersonen wird gemischt und mit Veronalpuffer pH 7,3 auf 70, 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10 und für Thrombotest auf 5% verdünnt. Für jede Verdünnungsstufe wird in vier Einzelbestimmungen die Gerinnungszeit in der oben beschriebenen Weise ermittelt. Die aus den vier Einzelbestimmungen erhaltenen Sekunden-Mittelwerte ergeben in ein Ordinatensystem gegen die %-Verdünnung

aufgetragen, die Eichkurve. (Abb.1) Es besteht keine lineare Abhängigkeit zwischen dem Grad der Verdünnung und der Gerinnungszeit, sondern eine Exponentialfunktion. Auf doppelt logarithmischem Papier aufgetragen ergibt sich eine Gerade. Dieser Kurvenverlauf bedingt, daß sich bei der Zeitmessung ein Fehler von einer Sekunde bei hoher Plasmakonzentration und kurzen Gerinnungszeiten sehr stark auswirkt. In der Spanne zwischen 100%igem und auf 50% verdünntem Plasma ist die Methode daher sehr ungenau.

Für jede Charge Thromboplastin "Roche" und Thrombotest wurde eine neue Eichkurve angelegt. Es empfiehlt sich außerdem, das Übereinstimmen mit der benutzten Eichkurve einmal wöchentlich durch Testung eines 20% und 100% Normalplasmas zu überprüfen. Die Eichkurven für beide Methoden wurden an einem Normal-Mischplasma hergestellt.

E r g e b n i s s e

I. Vorversuche mit Thrombotest-Reagens:

1. Es wurde die zur Auflösung des Thrombotest-Trockenpulvers verwendete 7,5mM CaCl_2 -Lösung in steigender Konzentration variiert. Dabei trat bei einer 10mM CaCl_2 -Lösung innerhalb 5 min. keine Gerinnung mehr ein (Ca-Hemmung). Das in dieser CaCl_2 -Lösung aufgelöste Reagens zeigte eine größere Homogenität als sonst. Es waren keine größeren Flocken vorhanden, die Lösung glich in der feindispersen Verteilung der für den Quick-Test verwendeten Thromboplastin-Lösung.

Der Thrombotest reagiert empfindlicher auf Variationen der CaCl_2 -Konzentration, da im Reagens schon welches enthalten ist. Die genaue Einhaltung der vorgeschriebenen Konzentration ist erforderlich.

2. Da sich beim Auflösen des Thrombotest-Trockenpulvers in den

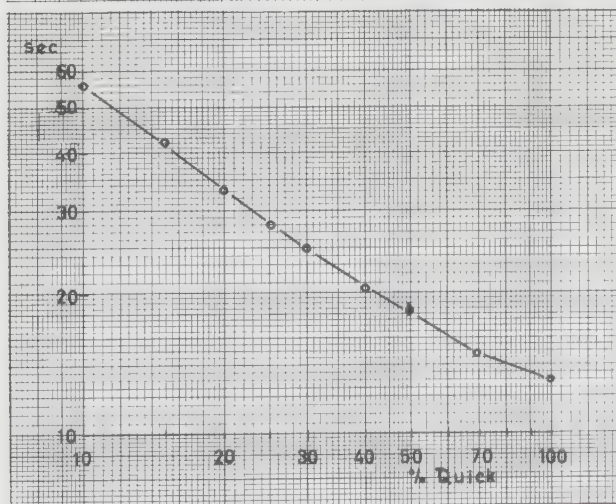
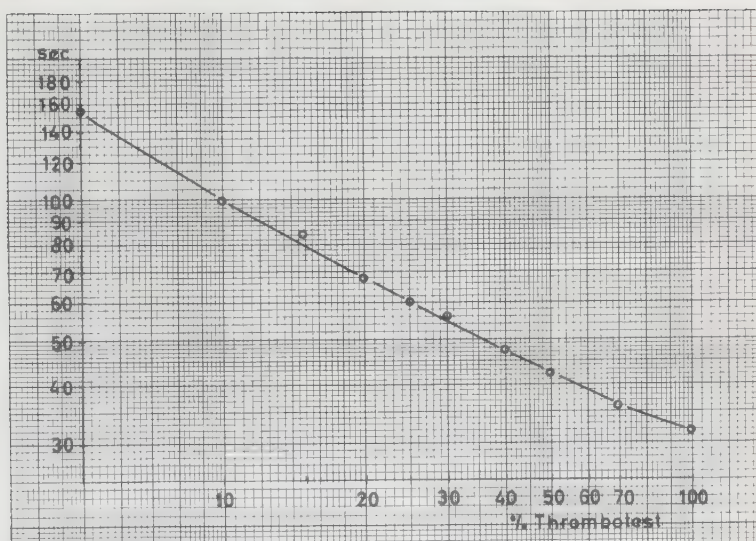


Abb. 1 : Eichkurven für die Thrombotestmethode - Charge Nr. 303 (obere Kurve) und für die Quickmethode - Charge Nr. 62 (untere Kurve).

einzelnen Ampullen unterschiedlich große Flocken bildeten und die Farbe vom helleren bis dunkleren gelb variierte, wurde geprüft, ob die Ampullen einer Charge - für die entsprechend eine Eichkurve verwendet wurde - die gleiche Gerinnungsaktivität besitzen. Drei Ampullen wurden mit auf 30% verdünntem Normalplasma eines Patienten getestet (Tab.I)

Tab. I : Testung von 3 Ampullen einer Thrombotest-Charge mit einem auf 30% verdünnten Normalplasma.

<u>Amp. Nr. 1</u>		<u>Amp. Nr. 2</u>		<u>Amp. Nr. 3</u>	
In der Lösung keine größeren Flocken, Farbe mittelgelb wie bei der Mehrzahl der Amp.		In Farbe und Dispersionsgrad makroskopisch der Amp.Nr.1 entsprechend.		In der Lösung etwas größere Flocken, Farbe etwas dunkler.	
sec.	%	sec.	%	sec.	%
59	26	52	33	53	33
62	23	54	31	55	30
60	25	50	35	50	35
63	22	50	35	51	34
58	27	51	34	54	31
59	26	54	31	53	33
60	25	54	31	54	31
<u>64</u>	<u>22</u>	<u>54</u>	<u>31</u>	<u>50</u>	<u>35</u>
$M = 61 \begin{smallmatrix} +3 \\ -3 \end{smallmatrix}$	$M = 25 \begin{smallmatrix} +2 \\ -2 \end{smallmatrix}$	$M = 52 \begin{smallmatrix} +2 \\ -2 \end{smallmatrix}$	$M = 33 \begin{smallmatrix} +3 \\ -2 \end{smallmatrix}$	$M = 53 \begin{smallmatrix} +2 \\ -3 \end{smallmatrix}$	$M = 33 \begin{smallmatrix} +2 \\ -3 \end{smallmatrix}$
$\bar{\sigma} = 2,24$	$\bar{\sigma} = 2,00$	$\bar{\sigma} = 1,88$	$\bar{\sigma} = 1,88$	$\bar{\sigma} = 2,00$	$\bar{\sigma} = 2,00$
$\bar{\sigma} = \text{Standardabweichung (Berechnung siehe S.41)}$					

Zu Tab. I : Die Ampullen Nr. 2 und 3 erwiesen sich als gleichwertig. Der Mittelwert von Ampulle Nr. 1 unterscheidet sich signifikant von den beiden anderen ($p < 0,0005$; die Berechnung der Signifikanz erfolgte nach der t-Verteilung). Die Differenz der Mittelwer-

te beträgt 8 sec., entsprechend einer Thrombotestdifferenz von 8%. In diesem Meßbereich sind 8% Chargenunterschied doch von praktischer Bedeutung.

Die makroskopisch sichtbare Flockenbildung oder Farbe des Reagens spielt hinsichtlich der Aktivität offenbar keine Rolle. Die übereinstimmenden Ampullen Nr. 2 und 3 differierten im äußeren Erscheinungsbild, während die abweichende Ampulle Nr. 1 in der Homogenität und Farbe Nr. 2 gleichkam.

Ergebnis: Verschiedene Ampullen einer Charge können sich in der Gerinnungsaktivität erheblich unterscheiden, wodurch die Genauigkeit der Methode leidet.

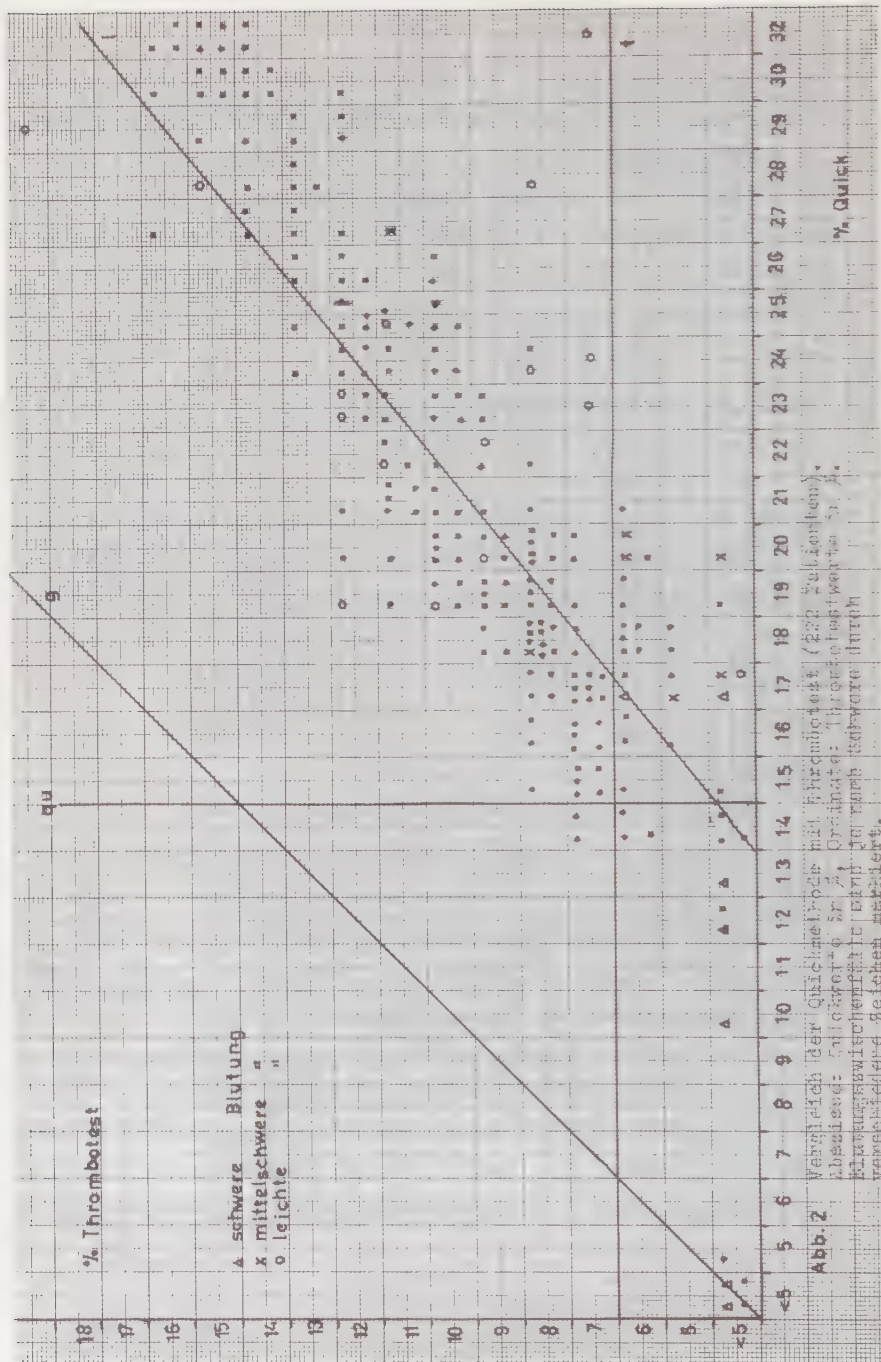
In der Folgezeit wurden deshalb stichprobenweise Ampullen mit verdünntem Normalplasma getestet und mit dem entsprechenden Eichkurvenwert verglichen. Einige Chargen zeigten eine gute Übereinstimmung, bei einem Teil konnte die in Tab.I gefundene signifikante Differenz bestätigt werden.

II. Patientenversuche

1. Korrelation zwischen beiden Methoden.

Die Ergebnisse der Parallelbestimmungen an 243 Marcumarpatienten mit der Quick- und Thrombotestmethode sind als Punktekurve in Abb.2 dargestellt. Die Thrombotestwerte in % der Norm sind gegen die Quickwerte in % der Norm aufgetragen. Blutungszwischenfälle sind durch besondere Zeichen kenntlich gemacht.

Bei dieser Art der Darstellung müßte bei Übereinstimmung beider Methoden die Punktehäufung eine Gerade durch den Nullpunkt im Winkel von 45° ergeben (Linie g). Das ist hier nicht der Fall. Es besteht eine systematische Abweichung. Die Linie 1, durch den Schwerpunkt der Punkteverteilung gezogen, ist annähernd parallel zur 45° -Linie



verschoben. Die Mittelwerte sämtlicher Bestimmungen betragen für die Quickmethode 23% (22,77%), für die Thrombotestmethode 11% (10,79%). Die Ergebnisse mit der Thrombotestmethode liegen also um rund 50% niedriger als mit der Quickmethode. Diese Verschiebung ist in Abb. 3, wo die Ergebnisse als Säulendiagramme dargestellt sind, gut sichtbar.

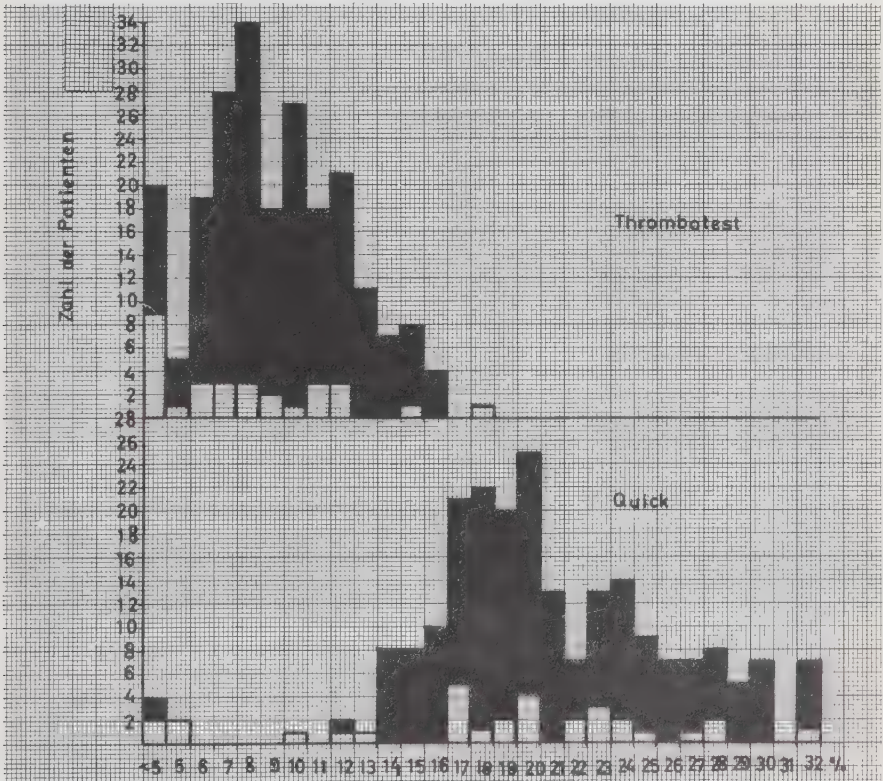


Abb. 3: Darstellung der Ergebnisse als Säulendiagramm. Abszisse: Quick- bzw. Thrombotest - %, Ordinate: Zahl der Patienten. Therapeutischer Quickbereich: 15 - 25%, therapeutischer Thrombotestbereich: 7 - 15%. ausgesparte Felder = Patienten mit Blutungskomplikationen.

Es wurde eine gute Korrelation zwischen beiden Methoden festgestellt. Der Korrelationskoeffizient r^2 beträgt 0,849, das Bestimmtheitsmaß 0,711, wobei die Bedingungen bestehen, daß $r = 1$ vollkommener Kovarianz entspricht, $r = -1$ vollkommener Kontravarianz; ist $r = 0$, kann auf einen Zusammenhang zwischen den beiden verglichenen Größen nicht geschlossen werden. Zur Korrelationsberechnung wurden sämtliche 243 untersuchten Fälle eingesetzt, in den Abbildungen 2 und 3 sind aus Gründen der graphischen Darstellbarkeit jeweils nur die Fälle bis zum Quickwert von 30% eingezeichnet (222 Patienten). Die restlichen 21 Fälle entsprechen Quickwerten oberhalb des therapeutischen Bereiches. Hier ist die Streuung eine größere als innerhalb des therapeutischen Bereiches, da sich Meßfehler entsprechend der kurzen Gerinnungszeit und dem Eichkurvenverlauf stärker auswirken. Quick- und Thrombotestwerte gleichen sich in den höheren Prozenten besser an und fallen bei 100% (Normalblut) zusammen.

In Abb. 4 ist der Verlauf der Anticoagulantienkontrolle bei vier Patienten in einem zweimonatigen Zeitraum wiedergegeben. Es zeigt sich eine gute Parallelität zwischen beiden Methoden. Bei der Patientin S.M. trat bei einem Quickwert von 17% (innerhalb des therapeutischen Bereiches) eine mittelschwere Blutung auf. In diesem Falle war der Thrombotestwert auf <5% (weit außerhalb des therapeutischen Bereiches) abgesunken.

+) Der Korrelationskoeffizient wurde berechnet nach der Formel (Lit.5)

$$r = \frac{[uv]}{\sqrt{[uu][vv]}}$$

r^2 = Bestimmtheitsmaß

u = Differenz des Einzelwertes zum Mittelwert der Reihe x

v = Differenz des Einzelwertes zum Mittelwert der Reihe y

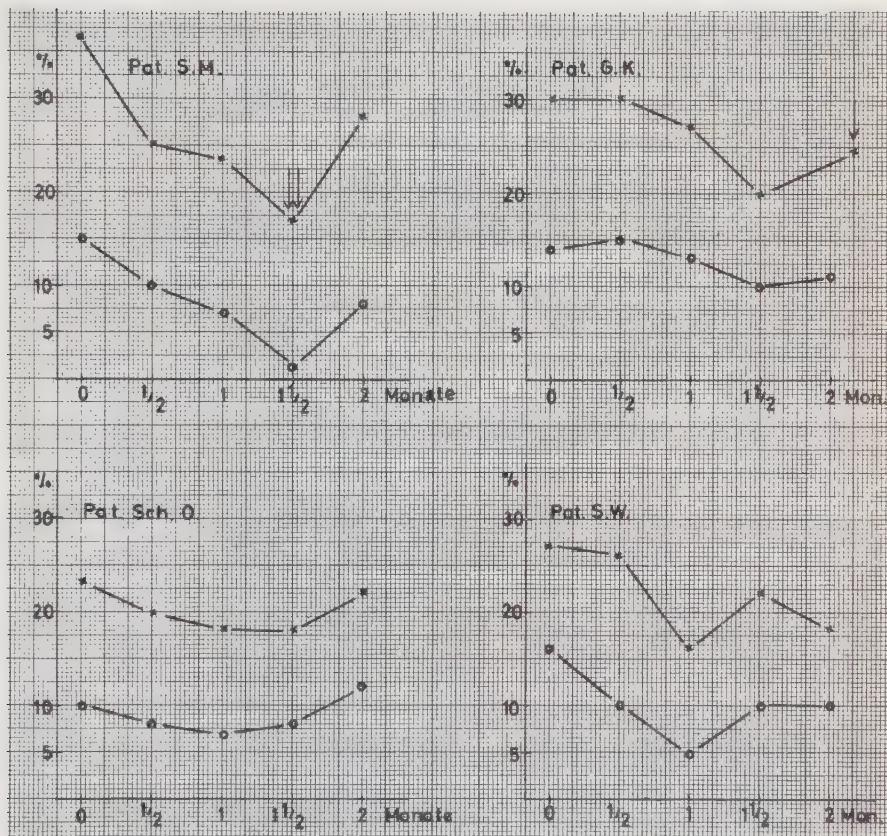


Abb. 4 : Verlauf der Kontrolle der Antikoagulantientherapie bei 4 Patienten. Abszisse: Zeit in Monaten, Ordinate: Quick- bzw. Thrombotest %.
 ↓↓ = mittelschwere Blutung. ↓ = leichte Blutung.

Für den Quickwert gilt heute allgemein der Bereich von 15 - 25% als therapeutisches Optimum, Werte über 30% als nicht ausreichend zur Thromboembolieverhütung. OWREN gibt für den Thrombotest Werte um 15% als erstrebenswert an, bei einer oberen Grenze von 20% und einer

unteren von 10%. Da bei unserem Laborstandard - wie oben dargestellt - beim Vergleich beider Methoden die Thrombotestwerte um 50% niedriger liegen als die Quickwerte, haben wir den therapeutischen Bereich für den Thrombotest bei 7 - 15% angenommen.

2. Patienten mit Blutungskomplikationen.

Bei 33 Patienten traten hämorrhagische Komplikationen auf. Sie sind in Tab.II aufgeführt. Neben Alter und Geschlecht ist die Art der Blutung verzeichnet. Bei Makro- und Mikrohamaturien wurden lokale Blutungsursachen ausgeschlossen.

Patienten mit größeren oder kleineren Hämatomen konnten sich bis auf einen an ein Trauma entweder nicht erinnern oder verneinten ausdrücklich. Sie wurden zur Beobachtung derselben ständig gehalten. Ein Teil der Patienten gab an, daß sie morgens beim Waschen unverhofft die Blutergüsse entdeckt hatten. Es dürfte sich um Mikrotraumen handeln, denen jeder ausgesetzt ist und die nicht beachtet werden.

Es wurde eine Einteilung in schwere, mittelschwere und leichte Blutungen vorgenommen. Als schwer wurden solche bezeichnet, bei denen neben Konaktion Bluttransfusionen nötig waren; als mittelschwer solche, bei denen man mit kurzfristigem Absetzen von Marcumar allein oder zusätzlicher Konaktionsgabe auskam. Als leicht wurden Mikrohamaturien und kleinere Ecchymosen bezeichnet, bei denen keine therapeutischen Maßnahmen erforderlich waren.

Bei den schweren Blutungen (Nr.1 - 6) liegen in einem Fall die Quickwerte im optimalen therapeutischen Bereich, die übrigen unterhalb der therapeutischen Grenze. Alle Thrombotestwerte liegen unterhalb des therapeutischen Bereiches.

Tab. II : Patienten mit Blutungskomplikationen

Nr.	Name	Alter Geschl.	Art der Blutung	Quick %	Thrombo- test %
1	K.G.	47 J.m	Großes musk.Hämatom a.Oberschenkel u. Wade. Hb auf 45% abgefallen Δ	<5	<5
2	M.Th.	59 J.w	Große Flächenhämatome a.Armen u.Beinen.Δ	<5	<5
3	K.O.	71 J.m	Großes subkutanes Hämatom a.Arm.	10	<5
4	M.F.	52 J.m	Massive Nierenblutung. Δ	12	<5
5	K.F.	63 J.m	Massive Nierenblutung. Δ	13	<5
6	G.J.	65 J.m	Makrohämaturie. Δ	17	5
7	B.J.	59 J.m	Ecchymosen. o	17	<5
8	F.A.	67 J.m	Ecchymosen u. Hämaturie.×	17	<5
9	S.M.	72 J.w	Multiple Flächenhämatome a.Rücken.×	17	<5
10	R.A.	72 J.m	Mikrohämaturie (+++).×	17	6
11	S.L.	66 J.m	Mehere 5-markstückgroße Hämatome a. Rücken u. Bein.×	18	8
12	W.E.	63 J.m	Multiple Flächenhämatome.×	20	<5
13	Sch.	67 J.w	Ecchymosen. o	20	9
14	W.H.	62 J.m	Mehere Hämatome a.Oberschenkel u.Sub- konjunktivalhämatom.×	20	6
15	G.J.	57 J.m	Großes subkutanes Hämatom a.Rumpf.×	20	6
16	G.B.	61 J.w	Ecchymosen. o	24	7
17	B.K.	72 J.m	Ecchymosen. o	24	8
18	W.J.	61 J.m	Kleine Hämatome am Arm u. Subkonjunktivalhämatom. o	22	9
19	S.M.	72 J.w	Ecchymosen. o	23	7
20	S.M.	72 J.w	Ecchymosen. o	28	8
21	W.M.	72 J.m	Hämatome a.d.Händen durch gewöhnlichen Händedruck. o	32	7
22	S.J.	69 J.m	Mikrohämaturie (++) o	19	12
23	S.W.	62 J.m	Mikrohämaturie (+), o	19	10
24	G.K.	58 J.m	Mehere 5-markstück-Hämatome a.Rücken, vereinzelt Ery im Urin. o	25	11
25	Z.G.	53 J.m	Mehrere 5-markstück-Hämatome a.Rumpf. o	23	12
26	Sch.	71 J.m	Mehrere kl.Hämatome a.Arm (Trauma). o	22	11
27	W.H.	58 J.w	Multiple kl.Hämatome a.ganzen Körper.×	27	11
28	H.G.	52 J.m	Mikrohämaturie (+). o	23	12
29	W.F.	50 J.m	Mikrohämaturie (+). o	29	18
30	V.F.	69 J.m	Mikrohämaturie (+). o	28	15
31	J.J.	59 J.m	Mikrohämaturie (+). o	43	35
32	K.E.	64 J.m	Mikrohämaturie (++) o	36	23
33	H.A.	58 J.m	Ecchymosen. o	38	41

Legende zu Tab. II : Δ = schwere Blutung, $\times$ = mittelschwere Blutung,
o = leichte Blutung.

Mikrohämaturie (+) = 5 - 15 Ery/Blickfeld

Mikrohämaturie (++) = 15 - 25 Ery/Blickfeld

Mikrohämaturie (+++) = über 25 Ery/Blickfeld

Die Leistungsfähigkeit beider Methoden bezüglich Blutungskomplikationen läßt sich am besten anhand der Funktekurve (Abb.2) besprechen:

Die vertikale Linie q sei als therapeutische Grenzlinie für die Quickwerte gedacht. Rechts davon liegt der therapeutische Quickbereich, links davon Werte, die als überdosiert betrachtet werden und bei denen man mit Blutungskomplikationen rechnen muß. In diesem Bereich der Blutungsgefahr liegen nur 5 der 33 Blutungsfälle, alle übrigen sind verteilt über den therapeutischen Bereich (vgl. auch Abb.3). Mit der Quickmethode hätte man demnach nur in 5 Fällen die zu starke Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit bemerken und das Manifestwerden der Blutung evtl. durch Dosisverringering verhindern können.

Die horizontale Linie t soll den therapeutischen Bereich des Thrombotest markieren, unterhalb dessen eine erhöhte Blutungsgefahr besteht. 13 der 33 Blutungsfälle befinden sich unterhalb dieser Grenzlinie, die übrigen liegen wie beim Quick verstreut innerhalb des therapeutischen Bereiches. Subtrahiert man von den 13 Fällen diejenigen, die auch mit der Quickmethode erfaßt wurden, so bleiben 8 Blutungsfälle, die bei Verwendung des Thrombotest evtl. zusätzlich hätten abgefangen werden können.

Die schweren Blutungen liegen sämtlich unterhalb der therapeutischen Thrombotestgrenze, ebenso 5 der 7 mittelschweren.

Alle leichten Blutungen hätten mit keiner der beiden Methoden erfaßt werden können. In Abb.2 sind 3 Fälle leichter Blutung, bei

denen Quick- und Thrombotestwerte weit oberhalb des therapeutisch gebräuchlichen Niveaus liegen, nicht mit verzeichnet. Es sind die Nummern 31 - 33 in Tab. II. Bei diesen und wahrscheinlich noch bei einigen anderen der leichten Blutungsfälle ist die Blutung möglicherweise allein einer kapillartoxischen Wirkung des Marcumar oder einer individuellen Überempfindlichkeit zuzuschreiben. - Eine Steigerung der Kapillarpermeabilität und - Fragilität durch Dicumarole ist von verschiedenen Autoren nachgewiesen worden (111,78,52,61). Sie soll bei Marcumar geringer sein als bei den übrigen Dicumarolen (78,52). Die Autoren weisen übereinstimmend darauf hin, daß kein Zusammenhang zwischen Gerinnungspotentialsenkung und dem Ausmaß der Kapillarschädigung besteht und daß die Kapillarschädigung allein eine wesentliche Ursache für das Auftreten von Blutungen sein kann. Für das Ausmaß der Schädigung ließen sich bisher keine Gesetzmäßigkeiten finden. Es ist unabhängig von der Dosishöhe der Anticoagulantien und der Dauer der Therapie. Eine unterschiedliche individuelle Kapillarresistenz scheint der maßgebliche Faktor zu sein.

3. Patienten mit zu niedrigen Quick- oder Thrombotestwerten (Tab.III):

Von 40 Patienten haben 9 mit beiden Methoden zu niedrige Werte. Davon zeigten 5 schwere Blutungskomplikationen, 4 keine Blutungen. Bei den restlichen 31 Patienten liegen nur die Thrombotestwerte unter der therapeutischen Grenze, die Quickwerte im optimalen Bereich. Nach den Thrombotestwerten sind diese Patienten sämtlich als blutungsgefährdet zu betrachten. Eine Blutung ist jedoch nur in 8 Fällen aufgetreten.

Tab. III : Patienten mit zu niedrigen Quick- oder Thrombotestwerten:

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Quick %	Thrombotest %	Blutungen
1	K.G.	47 J.	m	< 5	< 5	schwere Blutung
2	M.T.	59 J.	w	< 5	< 5	schwere Blutung
3	B.A.	59 J.	m	< 5	< 5	—
4	A.H.	65 J.	m	5	< 5	—
5	L.E.	69 J.	m	< 5	< 5	—
6	K.D.	71 J.	m	10	< 5	schwere Blutung
7	M.F.	52 J.	m	12	< 5	schwere Blutung
8	F.H.	57 J.	m	12	< 5	—
9	K.F.	63 J.	m	13	< 5	schwere Blutung
10	M.J.	53 J.	m	17	< 5	—
11	M.W.	58 J.	m	17	5	—
12	H.S.	56 J.	m	18	5	—
13	G.J.	64 J.	m	15	< 5	—
14	H.L.	59 J.	m	14	< 5	—
15	W.O.	61 J.	m	14	< 5	—
16	S.W.	62 J.	m	16	5	—
17	L.B.	59 J.	w	8	5	—
18	E.Z.	62 J.	w	9	5	—
19	E.F.	61 J.	m	14	< 5	—
20	M.M.	64 J.	m	15	6	—
21	S.H.	56 J.	m	17	6	—
22	K.L.	61 J.	m	16	6	—
23	H.G.	52 J.	m	16	6	—
24	K.E.	53 J.	m	18	6	—
25	U.H.	72 J.	m	18	6	—
26	F.A.	67 J.	m	17	< 5	mittelschwere Blutung
27	G.J.	59 J.	m	17	< 5	leichte Blutung
28	S.M.	72 J.	w	17	< 5	leichte Blutung
29	G.J.	65 J.	m	17	5	schwere Blutung
30	R.A.	72 J.	m	17	6	mittelschwere Blutung
31	H.K.	75 J.	m	18	6	—
32	F.P.	61 J.	m	18	6	—
33	K.J.	59 J.	m	18	6	—
34	S.B.	61 J.	m	19	6	—
35	Sch.	71 J.	m	19	6	—
36	Sch.	60 J.	m	20	6	—
37	N.W.	58 J.	m	21	6	—
38	W.E.	63 J.	w	20	< 5	mittelschwere Blutung
39	W.H.	62 J.	m	20	6	mittelschwere Blutung
40	G.J.	57 J.	m	20	6	mittelschwere Blutung

III. Streuung der Einzelmessung bei beiden Methoden im therapeutischen Bereich.

Sie wurde ermittelt durch jeweils 10 Einzelbestimmungen an einem Plasma und nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet (Tab.IV), nach der Formel

$$s = \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

s = Streuung, mittlere quadratische Abweichung, Standardabweichung

$\bar{x}$ = Mittelwert, (arithmetisches Mittel)

x_i = Wert der Einzelmessung

n = Anzahl der Einzelmessungen

Tab. IV : Berechnung der Streuung der Einzelmessung bei beiden Methoden.

Quick		Thrombotest	
<u>sec.</u>	<u>%</u>	<u>sec.</u>	<u>%</u>
44	15	142	7
42	16	140	8
45	14	143	7
46	14	144	7
40	17	149	7
49	12	145	7
42	16	143	7
39	18	148	7
46	14	145	7
<u>48</u>	<u>13</u>	<u>149</u>	<u>7</u>
M = 44 $\begin{smallmatrix} +4 \\ -5 \end{smallmatrix}$	15 $\begin{smallmatrix} +3 \\ -3 \end{smallmatrix}$	M = 145 $\begin{smallmatrix} +4 \\ -5 \end{smallmatrix}$	7 $\begin{smallmatrix} +1 \\ -0 \end{smallmatrix}$
$s = \begin{smallmatrix} +3,32 \\ - \end{smallmatrix}$	$s = \begin{smallmatrix} +1,85 \\ - \end{smallmatrix}$	$s = \begin{smallmatrix} +3,28 \\ - \end{smallmatrix}$	$s = \begin{smallmatrix} +0,33 \\ - \end{smallmatrix}$

Die Bestimmungen wurden an einem Plasma durchgeführt.

Die Standardabweichung der %-Werte ist bei der Thrombotestmethode im therapeutischen Bereich kleiner als beim Quick, $s_{\text{Quick}} = 1,85$,

5 Thrombotest = $\pm 0,33$. Das entspricht den theoretischen Erwartungen. Die Gerinnungszeiten beim Thrombotest sind fast doppelt so lang wie beim Quick. Der Meßfehler einer Messung wird kleiner mit Verlängerung der Reaktionszeit, wenn beide Methoden den gleichen Eichkurvenverlauf haben und der Gerinnungseintritt mit beiden gleich gut erfaßt wird. Die Steigung der Eichkurven ist für beide Methoden etwa gleich (siehe Abb. 1). Der Gerinnungseintritt läßt sich bei der Thrombotestmethode mindestens genau so exakt feststellen wie bei der Quickmethode. Das gelblich-tribe Reagens bedeutet keine Erschwerung. Die anfänglich kleinen Flocken werden bei bald zu erwartendem Gerinnungseintritt allmählich größer und bewegen sich langsamer, bis die gesamte Flüssigkeit plötzlich ein homogeneres Aussehen bekommt und ein Teil an der Platinöse hängen bleibt.

IV. Arbeitsaufwand und Preis

In der Einfachheit der Durchführung entspricht die Thrombotest-der Quickmethode. Die geringere Streuung bei der ersteren wird erkaufte durch eine etwa doppelte Dauer jeder Einzelbestimmung. Das ist ein Faktor, der in einem ambulanten Betrieb, wo an bestimmten Tagen an 50 - 60 Patienten Untersuchungen durchgeführt werden müssen, erheblich ins Gewicht fällt. Weiterhin ins Gewicht fallend ist der beträchtliche Preisunterschied zwischen beiden Methoden bzw. den verwendeten Reagenzien. Der Preis für die Thrombo-plastinlösung zur Durchführung von Doppelbestimmungen an 20 Patienten beträgt etwa 2,50 DM, für Thrombotestreagens bei entsprechenden Bestimmungen etwa 43,00 DM (hierbei ist der vermehrte Zeitaufwand nicht eingerechnet).

Besprechung der Ergebnisse

Wir fanden bei Untersuchungen an 245 Patienten die Thrombotestwerte im therapeutischen Quickbereich systematisch um etwa 50 % niedriger als die Quickwerte. Bei höheren Quickprozenten glichen sich beide Methoden mehr an. Dabei bestand eine gute Korrelation zwischen beiden Methoden.

Die Thrombotestmethode ist in verschiedenen Laboratorien mit der Quickmethode vergleichend untersucht worden. Die Ergebnisse hinsichtlich der Übereinstimmung beider Methoden sind unterschiedlich. Ähnlich wie wir fanden ALLINGTON (3) und VIGRAN (118) die Thrombotestwerte im Durchschnitt um 50% niedriger als die Quickwerte. Bei VIGRAN ist allerdings die Streuung eine bedeutend größere und die Thrombotestwerte liegen auch bei hohen Quickprozenten in der Mehrzahl niedrig. ZOLLINGER (129) fand die Quickwerte im Durchschnitt um etwa 10% höher. Höhere Werte fand auch MATTHEWS (80) mit der P&P-Methode, während OWREN (91) und GORDIN (29) mit der P&P-Methode und Thrombotest übereinstimmende Werte erzielten. DEUTSCH (25) fand die Thrombotestwerte um knapp 10% niedriger als die Quickwerte.

Die Unterschiede in den Ergebnissen der einzelnen Autoren hängen wahrscheinlich mit der Verwendung verschiedener Thromboplastinpräparate zur Quickbestimmung zusammen und mit sonstigen, im Einzelfalle nicht immer leicht zu eruiierenden laboreigenen Varianten.

In dem untersuchten Krankengut fanden sich 33 Blutungsfälle, das sind etwa 15%. Dieser relativ hohe Prozentsatz kommt dadurch zustande, daß auch leichtere Blutungen wie kleinere Hämatome und Mikrohämaturien mitgezählt wurden. Mit der Thrombotestmethode hät-

ten 8 von 33 Blutungen besser als mit der Quickmethode erkannt werden können, d.h. in 1/4 der Fälle war die Thrombotestmethode zuverlässiger im Anzeigen einer Blutungsgefahr.

Auf der anderen Seite wären 31 weitere Fälle mit der Thrombotestmethode als blutungsgefährdet und damit überdosiert erschienen (Werte < 5 und um 5%), die bei der Quickmethode sämtlich innerhalb des therapeutischen Bereiches lagen. Tatsächlich haben von diesen Fällen nur 8 geblutet und es bleibt offen, ob bei einer Einstellung dieser Fälle mit dem Thrombotest nicht unterdosiert worden wäre mit dem Resultat einer ungenügenden Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit.

Betrachtet man diese Ergebnisse in Zusammenhang mit denen von HOLEMANS und VERSTRAETE (37), so könnte man dagegen annehmen, daß die niedrigen Thrombotestwerte die tatsächliche Hypokoagulabilität widerspiegeln. Die Untersucher, die die Thrombokinasbildung (Thromboplastin generation test) mit der Quickmethode verglichen haben, fanden bei einem kleinen Teil der Fälle ebenfalls die Quickwerte im therapeutischen Bereich bei stark herabgesetzter Thrombokinasbildung, während im Großen die Quickwertsenkung parallel zur Minderung der Thrombokinasbildungsfähigkeit gefunden wurde.

Eine Anzahl leichterer Blutungen traten bei Quick- und Thrombotestwerten im oder oberhalb des therapeutischen Bereiches auf. Sie sind wahrscheinlich nicht durch ein Defizit an Gerinnungsfaktoren bedingt und deshalb auch mit einem Gerinnungstest nicht erfassbar. Möglicherweise sind sie allein der kapillarschädigenden Wirkung des Marcumar zuzuschreiben. Zu ähnlichen Schlüssen gelangen HOLEMANS und VERSTRAETE (37). Auch sie fanden teilweise Blutungen bei the-

rapeutischen Quickwerten und entsprechend erhaltener Thrombokinasbildungs-fähigkeit.

Als Nachteil der Thrombotestmethode ist eine gelegentlich ungenügende Standardisierung des lyophilisierten Trockenpulvers zu nennen. Wir fanden bei Ampullen einer Charge oft eine beträchtliche Abweichung in der Gerinnungsaktivität. Weiterhin empfanden wir die langen Gerinnungszeiten und den dadurch bedingten doppelten Zeitaufwand als nachteilig. Dadurch wird der Meßfehler zwar etwas reduziert, bei genügender Routine und konstanten Arbeitsbedingungen ist die Standardabweichung bei der Quickmethode aber nicht so wesentlich größer, daß es für die Praxis bedeutend wird. Dazu kommt der doch sehr beträchtliche preisliche Unterschied.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse erscheinen die Vorteile des Thrombotest, die in einer besseren Erfassung der Blutungsgefahr in 1/4 der Fälle bestehen und die an einem größeren Krankengut noch statistisch gesichert werden müßten, vorläufig nicht ausreichend, um die Nachteile soweit aufzuwiegen, daß man die Quickmethode nicht weiterhin für die Kontrolle der Anticoagulantien-Langzeittherapie empfehlen könnte.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Überblick über den heutigen Stand der Gerinnungstheorie gegeben, die Wirkungsweise der Anticoagulantien vom Typ der Cumarinderivate beschrieben und die Schwierigkeit der Auffindung einer adäquaten Kontrollmethode dargelegt.
2. In Parallelbestimmungen an 243 Marcumarpatienten unter Langzeittherapie wird die Thrombotest- mit der Quickmethode verglichen:
 - a) Die Thrombotestwerte liegen im Durchschnitt um 50% niedriger als die Quickwerte. Dabei besteht eine gute Korrelation zwischen beiden Methoden.
 - b) Ein Teil der aufgetretenen Blutungen hätte bei Verwendung des Thrombotest als Kontrollmethode im Gegensatz zum Quick erkannt werden können (8 von 33).
 - c) Ein anderer Teil der Blutungen konnte mit keiner der beiden Methoden erkannt werden. Es wird vermutet, daß diese leichteren Blutungen nicht durch Hypokoagulabilität, sondern allein durch Kapillarschädigung bedingt sind.
 - d) Die Thrombotestmethode erfordert bei etwas kleinerer Streuung der Einzelmessung den doppelten Zeitaufwand. Das Reagens ist um ein Vielfaches teurer als das zur Quickwertbestimmung verwendete Thromboplastinpräparat.
3. Die Ergebnisse werden diskutiert.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. GOOSSENS für seine Anleitung und stets bereitwillig gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit herzlichst danken.

Auch Herrn Dr. WALCHER gilt für seine Hilfe mein Dank.

Herrn Prof. Dr. SEITZ habe ich für die freundliche Überlassung des Themas zu danken.

Literaturverzeichnis

1. Ackroyd, J.F.: Brit.J.Haemat. 2, 397 (1956)
2. Aggeler, F.M.: Zitiert bei 16.
3. Allington, M.J.: Lancet 1, 224 (1960)
4. Bachmann, F., F.Duckert, U.Fisch, F.Streuli, D.Gerber u. F.Koller: Schweiz.Med.Wschr. 88, 1037 (1958)
5. Baule, B.: Ausgleichs- u.Nährungsrechnung. S.Hirzel, Leipzig 1963
6. Biggs, R., A.S.Douglas, R.G.McFarlane, J.V.Dacie, N.R.Pitney, C.Merskey, R.O'Brien: Brit.Med.J. 2, 1378 (1952)
7. Biggs, R. u. A.S.Douglas: J.Clin.Path. 6, 23 (1953)
8. Biggs, R. u. R.G.McFarlane: Human Blood Coagulation. Blackwell, Oxford 1957
9. Biggs, R. u. H.L.Nossel: Thromb.Diath.haem. 6, 1 (1961)
10. Borchgrevink, C.F., B.A.Waaler: Acta med.scand. 162, 361 (1958)
11. Borchgrevink, C.F., O.Egeberg, J.G.Pool, T.Skulason, H.Stor-morken, B.A.Waaler: Brit.J.Haemat. 5, 294 (1959)
12. Bounameaux, Y.: Rev.frc.étud.clin.biol. 2, 52 (1957)
13. Campbell, H., W.Roberts, W.Smith a. K.Link: J.Biol.Chem. 136, 47 (1940)
14. Copley, A.L.: Ärztl.Forsch. 11, 114 (1957)
15. Crafoord, A.: Acta chir.scand. 79, 407 (1937)
16. Deutsch, E.: Blutgerinnungsfaktoren. Deuticke, Wien 1955
17. Deutsch, E., K.Kundratitz, H.Frischauf, J.Jurka u. H.Schaden: Arch.Kinderheilk. 148, 115 (1954)
18. Deutsch, E.: Klin.Wschr. 28, 326 (1950)
19. Duckert, F., P.Flückiger, M.Matter u. F.Koller: Proc.Soc.Exper. Biol.Med. 90, 17 (1955)
20. Egli, H.: In: Hämostase - Thrombogenese - Pharmakol.wirksame Gerinnungsproduk-te. Schattauer, Stuttgart 1963, S.130
21. Egli, H.: Persönliche Mitteilung an Goossens, N.

22. Fiechter, N.: Schweiz.Med.Wschr.70,259(1940)
23. Fisch, U., F.Duckert u.F.Koller: Schweiz.Med.Wschr.88,1045(1958)
24. Fisch, U.: Thromb.Diath.haem.2,60(1958)
25. Fischer, M. u.E.Deutsch: Wiener Med.Wschr.111,713(1961)
26. Fischer, A.u.E.Hecht: Biochem.Z.269,119(1934)
27. Fukarake, K., M.H.Cho, W.H.Seegers: Am.J.Physiol.194,280(1958)
28. Gaarder, A., J.Jonson, S.Laland, A.Hellem, P.A.Owren: Nature 192,531(1961)
29. Gordin, R.: Scand.J.Clin.Lab.Invest.12,329(1960)
30. Govaerts, F.u.A.Gratia: Rev.belg.Sci.méd.3,689(1931)
31. Gross, R., L.Illig, E.Macher:Thromb.Diath.haem.1,223(1957)
32. Halse, Th.: Med.Klin.42,20(1947)
33. Hartert, H.: Zschr.klin.Med.153,423(1955)
34. Hartert, H.: In: Thrombose u.Embolie, II.Hamburger Symposium, Thieme, Stuttgart 1958
35. Haycraft, J.B.: Arch.exp.Fath.Pharm.18,209(1884)
36. Hecht, E.R., M.H.Cho, W.H.Seegers: Am.J.Physiol.193,584(1958)
37. Holemans, R., M.Verstraete: Blut, 8,29(1962)
38. Höpker, W.u.K.Becher: Ärztl.Wschr.33,631(1959)
39. Hougie, C., E.M.Barrow, J.B.Graham: J.clin.Invest.36,485(1957)
40. Hougie, C.: J.Lab.Clin.Med.50,61(1957)
41. Howell, W.H., E.Holt: Am.J.Physiol.47,328(1918)
42. Howell, W.H., E.Holt: Am.J.Physiol.63,434(1922)
43. Illig, L.: Physiologie u.Pathophysiologie des Kapillarbettts. In: Angiologie, Thieme, Stuttgart 1959
44. Johnson, S.A., R.McClaghry u.W.H.Seegers: J.Mich.med.Soc. 54,797(1955)
45. Johnson, S.A., W.H.Seegers: Circ.Res.4,182(1956)
46. Johnson, S.A.: Fed.proc.16,68(1957)
47. Johnson, S.A., W.H.Seegers, J.L.Koppl, J.H.Olwin: Thromb.Diath.haem.1,637(1957)

48. Jürgens, J.: In: Hämorrh.Diathesen. Intern. Sympos. Wien, Springer 1955
49. Jürgens, J.: Acta haemat. 16, 181 (1956)
50. Jürgens, J.: Klin. Wschr. 24, 216 (1947)
51. Jürgens, J.: Internist, 1, 242 (1960)
52. Jürgens, R.: Schweiz. Med. Wschr. 83, 471 (1953)
53. v. Kaulla, K.N., W. Henkel: Klin. Wschr. 31, 515 (1953)
54. Kniepkamp, G.: Gebh. Frauenhk. 17, 845 (1957)
55. Koller, F., A. Loeliger, F. Duckert: Acta haemat. 6, 1 (1951)
56. Koller, F. u. H. Jakob: Schweiz. Med. Wschr. 83, 476 (1953)
57. Koller, F., A. Loeliger, F. Duckert u. H. Hu Wang: Dtsch. med. Wschr. 77, 528 (1952)
58. Koller, F.: Dtsch. med. Wschr. 81, 521 (1956)
59. Koller, F.: In: Thrombose u. Embolie. II. Hamburger Sympos., Thieme, Stuttgart 1958
60. Koller, F.: Thromb. Diath. haem. 2, 407 (1958)
61. Kuschinsky, G. u. L. Ludewig: Arch. exp. Path. 210, 404 (1950)
62. Lehmann, J.: Mschr. Kinderheilk. 86, 44 (1941)
63. Lewis, M. L. u. A. G. Ware: Blood, 9, 520 (1954)
64. Loeliger, A.: Schweiz. Med. Wschr. 88, 639 (1958)
65. Loeliger, A.; J. F. Ph. Hers: Thromb. Diath. haem. 1, 499 (1957)
66. Loeliger, A., A. Hensen: Thromb. Diath. haem. 6, 391 (1961)
67. Loeliger, A., B. van der Esch, M. J. Mattern, A. S. A. den Brabander: Thromb. Diath. haem. 2, 74 (1963)
68. Loeliger, A.: Persönliche Mitteil. an Goossens, N.
69. Lüscher, E. F.: Vox sang. 1, 133 (1956)
70. Mammen, E. u. R. Groß: Blut 8, 109 (1962)
71. Mammen, E., F. M. Yoshinari, W. H. Seegers: Thromb. Diath. haem. 5, 38 (1960)
72. Mammen, E., W. R. Thomas, W. H. Seegers: Thromb. Diath. haem. 5, 219 (1960)
73. Marbet, R. u. A. Winterstein: Medizinische 25, 877 (1954)

74. Marbet, R.u.A. Winterstein: Fraxis, 42, 61 (1953)
75. Marbet, R.u.A. Winterstein: Ärztl. Forsch. 2, 460 (1955)
76. Margolis, J.: Nature 180, 1464 (1957)
77. Marx, R.u.H. Bayerle: Z. physiol. Chem. 283, 243 (1949)
78. Matis, F.: Ärztl. Forsch. 6, 298 (1953)
79. Matis, P., H. Mayer, H. Nagel: Med. Welt 2, 1891 (1961)
80. Matthews, J.M., W. Walker: Lancet 2, 1159 (1959)
81. McLean, J.: Am. J. Physiol. 41, 250 (1916)
82. Montigel, C.: Ther. Umschau 2, 17 (1952)
83. Montigel, C.: Schweiz. Med. Wschr. 89, 1259 (1959)
84. Murray: Zitiert nach Jorpes, E.: Schweiz. Med. Wschr. 77, 51 (1947)
85. Naye, R.L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 91, 101 (1956)
86. Niewiarowski, S., E. Kowalski: Rev. Hémat. 13, 320 (1958)
87. Owren, P.A.: Proc. Norweg. Acad. Sci. 17, 21 (1944)
88. Owren, P.A.: Lancet 1, 446 (1947)
89. Owren, P.A.: Acta med. scand. Suppl. 194 (1947)
90. Owren, P.A., K. Aas: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 3, 201 (1951)
91. Owren, P.A.: Lancet 2, 754 (1959)
92. Owren, P.A.: Lancet 1, 600 (1960)
93. Owren, P.A.: Triangel 5, 286 (1962)
94. Parmeggiani, A.: Thromb. Diath. haem. 6, 517 (1961)
95. Quick, A.J.: Lancet 2, 379 (1947)
96. Quick, A.J.: Am. J. Physiol. 114, 282 (1935)
97. Quick, A.J.: Am. J. Physiol. 118, 260 (1937)
98. Quick, A.J.: J. Biol. Chem. 109, 73 (1935)
99. Rapaport, S.J., K. Aas, P.A. Owren: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 6, 81 (1954)
100. Roderick, L.M.: Am. J. Physiol. 96, 413 (1931)
101. Rodmann, R., B.H. Pastor, K.C. Fawcett: Am. J. Med. 31, 547 (1961)

102. Seegers, W.H., J.F.Johnson, C.Fell: Am.J.Physiol.176,97(1954)
103. Seegers, W.H., M.I.McCloughry, J.H.Fahey: Blood 5,421(1950)
104. Seegers, W.H.: Arch.Biochem.Biophys.36,484(1952)
105. Sise, H.S., D.M.Kimball, D.Adamis: Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.)
89,81(1955)
106. Sokal, G.: In: Hämostase - Thrombo-genese -
Pharmakol.wirksame Gerinnungs-
produkte. Schattauer, Stutt-
gart 1963, S.59
107. Soulier, J.P.: Sang 17,448(1946)
108. Soulier, J.P., M.J.Larrieu: Les Anticoagulants en Thérapeu-
tique. Paris 1955
109. Soulier, J.P., O.Prou-Wartelle: Brit.J.Haemat.6,88(1960)
110. Stapp, W.F.: Scand.J.Clin.Lab.Invest.10,169(1958)
111. Schmidt, H.u.R.Marx: Med.Klin.46,812(1951)
112. Schoffield, F.W.: J.Am.Vet.Med.Assoc.64,553(1924)
113. Schulmann, J., C.Smith: Blood 7,794(1952)
114. Thies, H.A.: Menschliche u.tierische Gewebs-
thrombokinasen. Thieme, Stuttgart
1957
115. Thies, H.A.: In: Thrombose - Embolie - Herz-
infarkt. Schattauer, Stuttgart 1958
116. Verstraete, M., J.Vandenbroucke: Acta med.scand.155,37(1956)
117. Verstraete, M., J.Vandenbroucke: Arch.int.Pharmacodyn.109,439
(1957)
118. Vigran, I.M.: J.Am.med.Ass.176,188(1961)
119. Waaler, B.A.: Scand.J.Clin.Lab.Invest.11,Suppl.
37(1959)
120. Ware, A.G., M.M.Guest, W.H.Seegers: J.Biol.Chem.169,231(1947)
121. Ware, A.G., W.H.Seegers: J.Biol.Chem.172,699(1948)
122. Ware, A.G., M.M.Guest, W.H.Seegers: Science 106,41(1947)
123. Walter, O.u.R.Schmutzler: Zschr.inn.Med.9,593(1954)
124. Witte, S.: In: Hämostase - Thrombo-genese -
Pharmakol.wirksame Gerinnungs-
produkte. Schattauer, Stuttgart
1963, S.39

125. Witte, S.: Die Blutstillung, in: Thrombo-
embolische Erkrankungen. Stutt-
gart 1960, S.151
126. Wissenschaftliche Tab.Geigy
127. Witts, L.J.: Glasgow med.J.137,57(1942)
128. Wright, I.S.: Blut 8,102(1962)
129. Zollinger, W.: Thrombosis and Anticoagulant
Therapy. Dundee 1960, S.42

Lebenslauf

Am 3.5.1936 wurde ich als Tochter des Beamten Erich Schönke und seiner Ehefrau Gretchen geb.Grünert in Meißen geboren. In meiner Heimatstadt besuchte ich die Volks- und Oberschule. 1954 legte ich die Reifeprüfung ab.

Im Herbstsemester 1954 begann ich mit dem Medizinstudium an der Humboldt-Universität Berlin, wo ich im Sommer 1956 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Am 24.7.59 heiratete ich Herrn Dr.med.Gebhard von Jagow. Das Medizinstudium beendete ich mit Ablegung des Staatsexamens am 10.2.1960 an der Humboldt-Universität Berlin. Ab April 1960 war ich ein Jahr lang als Medizinalassistentin am Institut für Physiologische Chemie der Charité Berlin tätig, danach bis zum 13.8.61 als wissenschaftliche Assistentin am gleichen Institut.

Am 13.8.61 verließ ich Ostberlin.

Im Krankenhaus Seefeld/Obb. arbeitete ich vom Oktober 1961 bis Juli 1962 als Medizinalassistentin und leistete damit die Pflichtzeit für Chirurgie und Frauenheilkunde ab. Vom August 1962 an arbeitete ich auf der internen Abteilung des Rotkreuzkrankenhauses II in München. Am 31.1.1963 erhielt ich die Bestallung als Arzt und war bis zum 31.9.63 als Assistenzärztin weiterhin auf der internen Abteilung des Rotkreuzkrankenhauses II tätig.

Seit dem 1.1.1964 arbeite ich als wissenschaftliche Assistentin am Institut für Pharmakologie der Ludwig-Maximilians Universität München.

